D. xv.

19/6

22102078746

Med
K11268

CANCELLED
SOCIETÀ EDITRICE LIBRARIA
CANCELLED
Milano

CHIMICA FISIOLOGICA

PER USO DEI

MEDICI E DEGLI STUDENTI

Dottor FILIPPO BOTTAZZI

Libero docente di Fisiologia in Firenze

CHIMICA FISIOLOGICA

PER USO DEI

MEDICI E DEGLI STUDENTI

VOLUME PRIMO

Parte I. — CHIMICA FISIOLOGICA GENERALE

(con 12 figure intercalate nel testo)

MILANO

SOCIETÀ EDITRICE LIBRARIA

15 - Via Disciplini - 15

[1898]

92840

2012

WELLCOME HISTORICAL MEDICAL LIBRARY

16 804 341

WELLCOME INSTITUTE LIBRARY
Coll. welMOmec
Call No. QU

Milano, 1898 - Stab. Tip. Società Editrice Libraria - Via Disciplini, 15

AL SUO ILLUSTRE MAESTRO

PROFESSOR CAV. GIULIO FANO

QUESTO LIBRO DEDICA

L' A.

Errata-Corrige (Vol. I).

Pag. 144. Nella formola della distearillecitina sopra il N c'è un segno | superfluo.
Pag. 209. Nella formola dell'acido aspartico invece di ($C^4 H^5 NO^4$) leggi $C^4 H^7 NO^4$.
Pag. 378, linea 14 (dal basso) invece di 59.64 % leggi 59,64 ‰.

Pag. 138.

Termine della serie	Serie acetica	Serie oleica
16.	$(C^n H^{2n} O^2)$ CH^3 | CH^2 | $(CH^2)^{13}$ | $CO.OH$ Ac. palmitico	$(C^n H^{2n-2} O^2)$ —
18.	CH^3 | CH^2 | $(CH^2)^{15}$ | $CO.OH$ (Ac. stearico)	CH^2 ‖ CH $(CH^2)^{15}$ | $CO.OH$ (Ac. oleico)

Pag. 142.

Tabella quattordicesima.

Termini	Serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)	Serie oleica ($C^n H^{2n-2} O^2$)
3.	CH^3 | CH^2 | $CO.OH$ (Ac. propionico)	CH^2 ‖ CH | $CO.OH$ (Ac. acrilico)
4.	CH^3 | CH^2 | CH^2 | $CO.OH$ (Ac. butirrico)	CH^2 | CH | CH^2 | $CO.OH$ (Ac. crotonico)
5.	CH^3 | CH^2 | $(CH^2)^2$ | $CO.OH$ (Ac. valerico)	CH^2 ‖ CH | $(CH^2)^2$ | $CO.OH$ (Ac. angelico)
6.	CH^3 | CH^2 | $(CH^2)^{15}$ | $CO.OH$ (Ac. stearico)	CH^2 ‖ CH | $(CH^2)^{15}$ | $CO.OH$ (Ac. oleico)

Pag. 5. Riga 10. Invece di « peso atomico medio » leggi « peso atomico ».
Pag. 7. Riga 26. — « solfocianuro di P » leggi « solfocianuro di K ».
Id. Riga 30 — « carb ssilico » leggi « carbonilico ».
Pag. 9. Riga 16. — « gruppi carboidrati » leggi « gruppi carboidrurati ».
Pag. 83, prima equazione. Invece di $- H^2O$ leggi H^2.
Pag. 96, ultima equazione. Invece di $- H^2O$ leggi $- H^2$.
Pag. 84. Riga 4. Invece di « mannosio » leggi « fruttosio ».
Pag. 100, seconda equazione. Invece di 2H leggi $2H^2$.
Pag. 145. Riga 19. Invece di $CdCl^4$ leggi $CdCl^2$.
Pag. 204. Riga 23. — « combustione » leggi « distillazione ».

PREFAZIONE

La pubblicazione d'un nuovo trattato di chimica fisiologica giustamente potrebbe parere a molti inutile se il libro, oltre all'essere scritto da un italiano per gli studiosi italiani, non fosse anche, almeno in alcuni punti, differente da quelli già esistenti.

Le modificazioni da me introdotte nella compilazione di questo libro sono di forma e di sostanza.

Un trattato di chimica fisiologica non è un trattato di fisiologia e nemmeno di chimica: esso ha esigenze proprie. L'ordinamento della materia in capitoli sulla « Nutrizione », sulla « Respirazione », ecc., quale si vede in alcuni recenti pregevoli trattati, mi sembra troppo fisiologico: poichè la chimica fisiologica non si occupa dei fenomeni della nutrizione, della respirazione, ecc., ma, principalmente, dei materiali che l'organismo impiega nello svolgimento di quei fenomeni e dei prodotti dei cangiamenti chimici ch'essi subiscono durante i medesimi, oltre che della costituzione chimica dei tessuti e degli organi. D'altra parte, un'arida enumerazione di sostanze, comprendente la descrizione dei loro caratteri e dei metodi di loro preparazione e determinazione qualitativa e quantitativa, non è un trattato di chimica fisiologica; ma, per fortuna, i libri così fatti sono pochi. È per questa ragione che io ho diviso questo libro in due parti principali. Nella prima parte (primo volume), comprendente la *Chimica fisiologica generale*, sono studiati i materiali che l'organismo vivente intro-

duce, le modificazioni ch'essi subiscono nel tubo digerente, passando dallo stato grezzo a quello di sostanze capaci d'essere assorbite; brevemente sono tratteggiati i meccanismi che entrano in giuoco nell'assorbimento e nella assimilazione delle medesime, in quanto si connettono con la natura loro e delle membrane che attraversano o degli elementi morfologici cui sono destinate; e finalmente i prodotti della disintegrazione che le dette sostanze subiscono nei tessuti viventi, servendo come sorgente d'energia. Il ciclo dei cangiamenti di detti materiali, dal momento e dalla forma in cui sono introdotti al momento e alla forma in cui sono espulsi, ossia l'intiero loro metabolismo, è così descritto, in capitoli distinti per ciascun gruppo delle sostanze alimentari semplici (lo studio degli alimenti composti appartiene più propriamente all' « Igiene »): « Sostanze inorganiche », « Idrati di carbonio ». « Grassi », « Sostanze proteiche ». Precede un capitolo sugli « Elementi », e seguono due capitoli sulle « Sostanze colloidi » e sugli « Enzimi e Fermenti ».

Questo ordinamento può sembrare più chimico che fisiologico; ma ciò è vero solo nella forma; in verità, il contenuto dei vari capitoli dimostra che, sebbene non sia trascurato lo studio della natura chimica dei vari gruppi e dei metodi più esatti di determinazione qualitativa e quantitativa delle varie sostanze, tutto il libro è informato dal concetto puramente fisiologico del « *Metabolismo animale* ».

Nella seconda parte (secondo volume) è contenuta la *Chimica fisiologica speciale*, ossia lo studio della composizione chimica dei tessuti e degli organi, e dei vari liquidi di secrezione ed escrezione che questi forniscono durante la loro attività. Io spero che il lettore trovi giusto, che la trattazione dei cangiamenti chimici che i materiali alimentari semplici subiscono sotto l'azione dei liquidi digerenti non sia confusa con lo studio della composizione chimica di questi liquidi, e che, p. es., la descrizione della natura del succo gastrico o della bile, insieme con quello dei metodi in uso per ottenere, analizzare, ecc., questi liquidi non vada disgiunta dallo studio dello stomaco o della mucosa gastrica e del fegato, come nessuno pensa di descrivere la composizione chimica del latte indipendentemente da quella della glandola mammaria. Precede un capitolo sulla « *Chimica della cellula vivente* », quasi come transizione dalla parte generale alla speciale, dove mi sono sforzato di raccogliere insieme quanto presentemente si conosce intorno ai problemi generali della chimica biologica. È

infatti nella *cellula vivente* che si svolgono tutti i processi metabolici fondamentali, che costituiscono la vita; è in essa che i materiali ingeriti e adequatamente trasformati contribuiscono alla costruzione della « Sostanza vivente », ascendendo la scala dell'anabolismo, e si disintegrano passando per i successivi stati del catabolismo. In questo capitolo il lettore troverà, dunque, quanto si suole affastellare, a mio parere intempestivamente per chi deve apprendere, nelle « introduzioni » dei libri simili a questo. Segue un' « Appendice », in cui ho descritto brevemente, per quanto la tirannia dello spazio me lo permetteva, alcuni dei metodi principali in uso nello studio della chimica fisiologica.

Queste. le modificazioni di forma. Le modificazioni sostanziali sono le seguenti.

Mi è sembrato non corretto bandire dai trattati di chimica fisiologica (tanto più che nemmeno quelli di fisiologia ne fanno cenno) le nozioni più elementari di *chimica fisica,* applicate o applicabili alla biologia, e i risultati che finora sono stati ottenuti da questa applicazione. Esse sono talmente legate alla « Fisiologia chimica » (come più giustamente alcuni chiamano già la la nostra « chimica fisiologica », essendo una materia ancora più *fisiologica* che *chimica*), che solo l'ignoranza di esse e della loro straordinaria importanza può spiegare il fatto da me dianzi lamentato. Così, io mi sono adoperato ad introdurre qua e là, dove mi sembrò più opportuno in questo libro, tali nozioni; e ho parlato delle *soluzioni* nel capitolo delle « Sostanze inorganiche », dei fenomeni e delle leggi dell'*imbibizione,* dell'*osmosi*, ecc., nel capitolo delle « Sostanze colloidi », dell'*isotonia,* della *tensione superficiale*, ecc., nel capitolo della « Cellula », dell'*isomolecolarità dei liquidi dell'organismo* in un capitolo speciale della seconda parte, ecc.

Ad un'altra grave lacuna mi sembra d'aver riparato, trattando in un capitolo distinto le proprietà delle « sostanze colloidi », in generale. Se si pensa che l'organismo animale è fatto in massima parte di materiali colloidi, che questi posseggono proprietà fisiche e chimiche particolari, dovute alla natura della loro aggregazione molecolare, indipendentemente da quelle dovute agli elementi di cui sono costituite, che queste proprietà tuttora in piccola parte messe in evidenza debbono avere una grande importanza nel *modo* in cui si svolgono i processi della vita, non si troverà inutile, io spero, questa aggiunta.

Ed ora, di tutte queste ed altre minori innovazioni io lascio

giudice il lettore: egli vedrà se sono dei miglioramenti o degli errori.

Con grato animo ricordo l'aiuto prestatomi dai Dott. Monsacchi e Ostrogovitch, dell'Istituto chimico di Firenze, nella trattazione di alcuni paragrafi di questo libro, e le cure che per esso ha avuto il Dott. L. Bufalini, della Casa Editrice.

Cambridge, Istituto fisiologico, nel marzo del 1898.

F. B.

INDICE DELLE MATERIE

PREFAZIONE VII

CAPITOLO PRIMO.

Gli elementi 3

Generalità 3
Ossigeno 7
Idrogeno 9
Carbonio ivi
Azoto 10
Solfo 11
Fosforo 13
Cloro 15
Fluoro ivi
Sodio 16
Potassio ivi
Calcio 18
Magnesio 19
Ferro ivi
Silicio 22
Manganese ivi
Rame. Piombo. Zinco ivi
Bromo. Jodo ivi

CAPITOLO SECONDO.

Le sostanze inorganiche 23
1. — Proprietà chimico-fisiologiche ivi
A. — L'acqua ivi

L'acqua 23
L'eliminazione dell'acqua 25
Ufficii dell'acqua 26

B. — I sali minerali 27

Generalità 27
Assorbimento dei sali minerali 28
Stato dei sali nei tessuti e liquidi dell'organismo . . . 30
Ufficio dei sali minerali 32
La proporzione dei principii minerali negli organi e liquidi dell'organismo 35
Delle soluzioni saline 37
I fosfati 66
I sali di calcio ivi
La sottrazione dei sali minerali 68

C. — I gas 70
2. — Assorbimento, assimilazione e metabolismo dei sali minerali . ivi

Eventuali modificazioni che subiscono le sostanze minerali nel tubo digerente 70
Assorbimento delle sostanze minerali ecc. 72

CAPITOLO TERZO.

Le sostanze organiche.

Gli idrati di carbonio 81
1. — Proprietà chimiche degli idrati di carbonio ivi

Generalità 81

A. — Monosaccaridi 84

Il destrosio 86
Determinazione quantitativa del glicosio 87
Reazioni del destrosio 93
Sintesi degli zuccheri 95
Il levulosio 97
Il galattosio ivi

B. — Disaccaridi 98

Generalità 98
Il saccarosio 99
Il lattosio ivi
Il maltosio 100
L'isomaltosio ivi

C. — Polisaccaridi 101

Generalità 101
Gruppo dell'amido 102
Determinazione quantitativa dell'amido ivi
L'inulina ivi
Il glicogeno 103
Preparazione del glicogeno ivi
Determinazione quantitativa del glicogeno 104
Gruppo delle destrine e delle gomme vegetali ivi
Gruppo del cellulosio 105
Jaline. Condroitina e condrosina. Chitina 107
Glicosidi 110

2. — Prodotti della digestione degli idrati di carbonio . . . 111
3. — Assorbimento ed assimilazione degl'idrati di carbonio . . 115

Come si forma il glicogeno 122

4. — Prodotti catabolici degli idrati di carbonio 123

CAPITOLO QUARTO.

Le sostanze organiche (*Continuazione*).

I grassi 133
1. — Proprietà chimiche dei grassi ivi

Generalità 133

A. — I grassi neutri 134
B. — Gli acidi grassi. 138
C. — Le lecitine, l'acido fosfoglicerico e la colina . . . 143

La lecitina 143
L'acido fosfoglicerico 145

D. — I saponi e la glicerina 147

I saponi 147

E. — Le colesterine 148

La colesterina 148
Reazioni caratteristiche 149
Isocolesterina 150

F. — Sostanze mieliniche 151

Sostanze mieliniche 151
Il protagono ivi
La cerebrina 153

G. — I Lipocromi 155

I lipocromi 155
Separazione e determinazione quantitativa dei grassi e delle altre sostanze che coi grassi si trovano unite 156
Preparazione della lecitina 159
Determinazione quantitativa della lecitina, colesterina, colina, grassi 160
Preparazione dei lipocromi 162
Preparazione della coprosterina ivi
Preparazione del protagono ivi

2. — Prodotti della digestione dei grassi 163

3. — Assorbimento e assimilazione dei grassi e sostanze affini . 167
4. — Prodotti catabolici dei grassi e sostanze loro affini . . . 183

CAPITOLO QUINTO.

LE SOSTANZE ORGANICHE (*Continuazione*).

Le sostanze proteiche 191
1. — Proprietà generali delle sostanze proteiche ivi

Generalità 191
Classificazione delle sostanze proteiche 192
Proprietà generali delle sostanze proteiche 194
Preparazione dei cristalli di varie proteine ivi
Proteine prive di ceneri e loro preparazione 196
Ancora delle combinazioni salino-proteiche 197
Composizione centesimale dei corpi proteici 202
Studio dei prodotti di scomposizione dei corpi proteici . . 104
Gruppi atomici contenuti nella molecola proteica . . . 211
Stato dell'N e dello S nella molecola proteica 215
Reazioni colorate delle sostanze proteiche 218

A. — Proteine 225

Reazioni di precipitazione delle proteine 228
Altri mezzi di precipitazione delle proteine 230
Determinazione del contenuto proteico totale di un liquido . 235
Separazione delle proteine e loro determinazione quantitativa 239
L'istone 241

B. — Le proteine denaturate 242

Le acidoproteine e le alcaliproteine 242

C. — Le nucleoalbumine 245

Classificazione delle sostanze proteiche complesse . . . 245
Nucleoalbumine 246
Le caseine 247
Le pseudonucleine 251

D. — I proteidi 252

Generalità 252
Nucleoproteidi 253
Preparazione dei nucleoproteidi 256
Le nucleine 258
L'acido nucleinico 261
Il nucleone, l'acido carnico e la carniferrina 263
Le basi allossuriche 267
Proprietà generali delle basi nucleiniche 269
Determinazione quantitativa delle basi nucleiniche . . . 271
Studio delle varie basi nucleiniche in particolare . . . 274
L'ipoxantina 277
Caratteri comuni ai corpi allossurici 281
I glicoproteidi 283
Le mucine vere 284
La condrina, l'acido condroitinsolforico e la condroitina . . 286
I fosfoglicoproteidi 287
I nucleoglicoproteidi 288
Le lecitalbumine 290
I cromoproteidi 291
L'emoglobina 292
L'ossiemoglobina 294
Combinazioni dell'emoglobina con altre sostanze . . . 302
Prodotti di scomposizione delle sostanze coloranti del sangue 305
Cromoproteidi del sangue di animali inferiori 308

E. — Gli albuminoidi 309

Generalità 309
Collageno e gelatina 311
La gelatina 313
La reticolina 314
L'elastina 315
La cheratina 316
Le scheletine 318
L'amiloide 321

2. — Prodotti della digestione delle sostanze proteiche . . . 334

Generalità 334
Prodotti della digestione gastrica delle proteine. Proteosi e Peptoni 335
Il processo proteolitico 337
Caratteri differenziali dei proteosi e dei peptoni . . . ivi
Proprietà 339
Composizione centesimale dei proteosi e dei peptoni . . ivi
Atmidalbumina e suoi derivati 341
Natura dei proteosi e dei peptoni ivi
Combinazioni dei prodotti della digestione gastrica con l'H Cl 342
Prodotti della digestione pancreatica delle proteine . . . 343
Prodotti della digestione delle altre sostanze proteiche . . 348

3. — Ulteriori modificazioni che subiscono le sostanze proteiche sotto l'azione della tripsina e della putrefazione intestinale . . 359

Generalità 359
Gli amidoacidi 361
La tirosina 363
Preparazione della leucina e della tirosina e loro separazione 365
Le basi. Generalità 366
Il triptofano 370

4. — Assorbimento e assimilazione delle sostanze proteiche . . 371
5. — Prodotti del catabolismo delle sostanze proteiche . . . 379

CAPITOLO SESTO.

Le sostanze colloidi 391

Caratteri generali delle sostanze colloidi 391
Separazione delle sostanze colloidi dalle cristalloidi . . . 392
Diffusione. Dialisi 394
Imbibizione 399
Caratteri generali dei colloidi 405
Classificazione dei colloidi 406
Colloidi ottenuti per sintesi ivi
Reazioni dei colloidi 407
Colloidi minerali 409
Teoria della coagulazione 410
Precipitazione dei colloidi con sali ivi
Viscosità delle soluzioni di colloidi 413

CAPITOLO SETTIMO

I fermenti e gli enzimi 415

Generalità 415
Proprietà dei fermenti e degli enzimi 416
Caratteri chimici degli enzimi 418
Caratteri dei fermenti ivi
Natura dell'azione dei fermenti e degli enzimi 420
Varie specie di enzimi 422
Processi per isolare gli enzimi 425

333

PARTE PRIMA

CHIMICA FISIOLOGICA GENERALE

CAPITOLO PRIMO

Gli elementi.

§ 1. **Generalità.** — Gli elementi che entrano nella composizione chimica degli organismi viventi sono: l'Ossigeno (O), l'Idrogeno (H), il Carbonio (C), l'Azoto (N), (l'Argon?), lo Solfo (S), il Fosforo (Ph), il Cloro (Cl), il Fluoro (Fl), il Sodio (Na), il Potassio (K), il Calcio (Ca), il Magnesio (Mg), il Ferro (Fe), il Silicio (Si), il Manganese (Mn).

A questi se ne debbono aggiungere altri, la cui presenza è accidentale negli organismi superiori, ma che possono in parte riscontrarsi costantemente in organismi inferiori. Sono: il Litio (Li), il Rame (Cu), il Piombo (Pb), lo Zinco (Zn).

SPENCER prima e S. ERRERA da ultimo hanno richiamato l'attenzione sul fatto che gli elementi fondamentali, che entrano a far parte della sostanza vivente, hanno tutti un peso atomico assai basso: essi appartengono alle prime quattro serie del sistema periodico di MENDELEEF, come resulta dalla tabella prima.

Se si traccia una linea sopra lunghezze proporzionali ai pesi atomici di questi corpi, si vede che tutti 12 gli elementi fondamentali **biogenici** sono compresi nel primo quarto di questa linea, ed appartengono tutti ai primi 23 corpi della scala ascendente dei pesi atomici. Quale può esser la ragione di ciò? Innanzi tutto, dobbiamo riconoscere che alla superficie del nostro globo predominano elementi che hanno un peso atomico molto basso, tanto che la densità dello strato superficiale del globo terrestre è di circa la metà minore di quella degli strati profondi del medesimo: certamente la sostanza vivente non poteva formarsi che a spese di questi elementi più comuni. Inoltre, va preso in considerazione il fatto che i complessi chimici costituiti da atomi leggieri sono più solubili in acqua, e noi sappiamo quale importanza ha lo stato di soluzione delle sostanze

Tabella prima

contenente le prime quattro serie del sistema periodico

di Mendeleef.

I	H = 1									
II	Li = 7	Gl = 9,25	Bo = 10,95	C = 12	N = 14,04	O = 16	Fl = 19,06			
III	Na = 23,04	Mg = 24	Al = 27,04	Si = 28,33	P = 31	S = 32,07	Cl = 35,46			
IV	K = 39,14	Ca = 40	Sc = 44	Ti = 48	Va = 51,3	Cr = 51,94	Mn = 55,2	Fe = 56	Ni = 58,6	Co = 59

chimiche nello svolgersi dei fenomeni della vita. Ancora, è chiaro che, a parità di massa, i composti di atomi leggieri ne contengono un maggior numero, donde risulta che, mentre gli elementi **biogenici** possono accumularsi in complessi atomici straordinariamente grandi, questi vengono anche ad esser relativamente molto più presto disgregati che scaldati dal calore che loro venga comunicato, il quale in essi diviene così latente, generando quello stato di instabilità molecolare, che caratterizza la sostanza vivente.

Noi sappiamo inoltre che il calore specifico è, in generale, tanto più grande, quanto minore è il peso atomico medio, così che, a parità di massa, le sostanze formate da atomi leggieri cambiano più difficilmente la loro temperatura interna. E finalmente i corpi formati d'atomi leggieri hanno, a parità di massa e di temperatura, più energie di riserva, perchè hanno assorbito maggior quantità di calore: hanno, in altre parole, un massimo di energia in un minimo di massa, come i corpi esplodenti.

Per mettere in rilievo l'importanza chimica del basso peso atomico degli elementi biogenici, dopo averne accennata l'importanza fisica, prendiamoli a considerare dal momento del loro ingresso nel ciclo vitale nei vegetali. Lo S entra sotto forma di $H^2 S O^4$, l'N sotto forma di $H N O^3$ o $H N O^2$, il P di $H^3 P O^4$, e a questi acidi molto energici sono legate delle basi, anche assai energiche, con cui formano dei sali. Ora è da considerare che i metalli alcalini e alcalinoterrosi, quali sono quelli appartenenti alla serie degli elementi biogienici, spostano dalle loro combinazioni tutti gli altri metalli; e, fra questi ultimi, il Fe, sposta tutti gli altri metalli pesanti. Lo stesso dicasi per gli acidi dianzi ricordati.

Gli elementi che entrano a far parte della materia vivente sono dunque, fra quelli che, procedendo verso sistemi più stabili, dànno maggior quantità d'energia, ed hanno la proprietà essenziale di non essere facilmente spostati da altri elementi, garantendo così la fissità della composizione chimica della materia organizzata.

Preyer distingue:

elementi organici di prim'ordine: H, C, N, O, Fl, Na, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Fe, i quali sono necessari al protoplasma degli organismi superiori; ed

elementi organici di second'ordine: Bo, Li, Mn, Cu, Zn, Br, Rb, Sr, I, Ce, i quali si trovano occasionalmente in alcune piante e animali, e in piccola quantità. Questi ultimi penetrerebbero, secondo Preyer, in un organismo nello stesso modo come molti altri elementi possono giungere nel corpo animale in forma di medicamenti, ma non vi acquistano mai un'alta importanza fisiologica.

Preyer ha trovato che fra i pesi atomici dei quattordici elementi che entrano nella costituzione del protoplasma vivente esistono re-

lazioni molteplici e più intime di quelle che esistono fra i pesi atomici degli elementi non biogenici. Il peso atomico di ciascun **elemento organico di prim'ordine,** ad eccezione di quello dell'N e del K (un'eccezione analoga, come vedremo, a quella segnalata da BLAKE), è molto approssimativamente eguale alla media aritmetica dei pesi atomici di due altri elementi organici di prim'ordine. Per esempio:

$$\frac{H + Na}{2} = C + 0{,}02 \qquad \frac{N + Mg}{2} = Fl - 0{,}03$$

$$\frac{H + P}{2} = O + 0{,}02 \qquad \frac{Mg + S}{2} = Si - 0{,}04$$

$$\frac{O + S}{2} = Mg + 0{,}03 \qquad \frac{P + Ca}{2} = Cl + 0{,}06.$$

PREYER fa osservare che, nel sistema naturale di MENDELEEF, gli elementi organici si trovano al principio dei singoli gruppi, fatta eccezione per il terzo gruppo, e propriamente per lo più appaiati al primo e secondo o al secondo e terzo posto; e già questo fatto dimostra che i detti elementi non sono irregolarmente distribuiti nel sistema. Ma il loro eminente significato e le loro relazioni con gli elementi anorganici non sono messi sufficientemente in luce nel sistema di MENDELEEF, perchè questo non fu ideato da un punto di vista biologico. Onde PREYER, accettando le ipotesi di KROOKES e di VENDT sull'evoluzione degli elementi da una materia originaria unica, che KROOKES chiamò **protile,** ha formulato un **sistema genetico,** in cui da una serie fondamentale di sette elementi in sette linee principali e in 3×7 linee collaterali derivano 12 serie di generazioni. La serie fondamentale è costituita da H, Li, Be, Bo, C, N e O, con pesi atomici da 1 a 16. Questo sistema genetico esige l'esistenza di al più 91 e al meno 84 elementi. Gli elementi organici di prim'ordine si trovano in esso appaiati nelle linee principali, fatta eccezione per il Fe; i quattro più importanti fra essi (H, C, N, O) appartengono alla serie fondamentale; il Fl, Na, S e P si trovano nella seconda serie trasversale. Anche gli elementi organici di second'ordine non sono irregolarmente distribuiti; essi trovansi tutti nella metà sinistra della tabella divisa diagonalmente. PREYER spera che l'introduzione nella chimica del concetto evolutivo, che tanti buoni risultati ha portato nelle scienze biologiche, riescirà utile anche a quella scienza.

Ma da un altro punto di vista ancora gli elementi possono essere da noi considerati nelle loro proprietà generali; vogliamo dire, per quanto riguarda l'azione fisiologica dei loro composti.

BLAKE fu il primo a richiamare l'attenzione sopra relazioni esistenti fra l'azione fisiologica e la costituzione chimica dei corpi. Egli osservò che fra i sali metallici l'intensità della loro azione fisiologica è connessa col peso atomico degli elementi, così che, se gli elementi

sono ordinati in gruppi isomorfi, l'azione di sostanze che si trovano nello stesso gruppo isomorfo è una funzione del peso atomico, nel senso che tanto maggiore è il peso atomico e tanto minore è la quantità di sostanza necessaria a produrre lo stesso effetto fisiologico. BLAKE inoltre notò che un'intima relazione esiste fra i caratteri spettrali degli elementi e la loro azione biologica. In generale gli elementi appartenenti allo stesso gruppo isomorfo hanno spettri omologhi, ad eccezione del K e del N, i cui spettri differiscono completamente da quelli degli altri elementi compresi nei rispettivi gruppi.

Più tardi, però, L. BRUNTON e CASH non riescirono a dimostrare una correlazione fra la composizione chimica di un gran numero di sostanze e la loro azione fisiologica, forse perchè essi non studiarono sempre sostanze semplici o perchè ne indagarono l'azione sopra l'intiero organismo, ottenendo resultati molto complessi. Rimane tuttavia stabilito che la correlazione fra la struttura chimica della sostanza, la struttura chimica o morfologica della cellula vivente e gli effetti fisiologici di quella su questa è uno dei cardini della moderna tossicologia, anzi l'unico principio direttivo d'una tossicologia scientifica (LÖW).

Passiamo ora rapidamente in rassegna quegli elementi.

§ 2. **Ossigeno.** — L'O si trova nell'organismo in diversi stati:

1.° È uno degli elementi costituenti di quasi tutte le sostanze organiche e di molte sostanze inorganiche, fra cui principalissima l'H^2O. È più agevole numerare le sostanze in cui esso non si trova: cloruri di Na, di K, di NH^4; fluoruro di Ca; solfocianuro di P; indolo, scatolo, pirrolo, ecc.

È interessante conoscere lo stato in cui si trova l'O nelle sostanze organiche. Noi sappiamo finora che esso si trova nella forma dei seguenti gruppi: ossidrilico, OH; carbossilico, CO; acido, CO OH; alcoolico CH^2OH e CH OH; aldeidico, COH; cianico, CONH; ecc.

Questi gruppi hanno un'importanza non solo puramente chimica, ma anche fisiologica. Si sa infatti che l'ossidrile (OH) imprime un carattere tipico a certi composti, come il fenolo, la morfina, ecc.

2.° Esiste allo stato di combinazione debole con l'emoglobina dei globuli rossi del sangue, costituendo l'ossiemoglobina (ved. questa), o con altri corpi proteici sciolti (emocianina, nel sangue dei cefalopodi, ecc.) o inglobati nei corpuscoli del sangue (p. e. nell'emeritrina del sangue di *Sipunculus nudus*) di animali inferiori.

3.° Esiste anche allo stato di semplice soluzione nel plasma del sangue, della linfa, e in altri liquidi dell'organismo, ad eccezione, forse, della bile e dell'orina (HOPPE-SEYLER). Bisogna ammettere che per un istante anche l'O combinato con l'emoglobina si trovi allo stato libero nella linfa che bagna gli elementi morfologici dei tessuti.

vale a dire nel momento in cui esso abbandona l'emoglobina ed attraversa le pareti dei capillari, per fissarsi alle sostanze che si disintegrano durante il metabolismo delle cellule viventi.

4.° Allo stato di gas libero nelle vie aeree, e, in piccolissima quantità, nel tratto superiore del tubo digerente.

L'O è molto diffuso sulla superficie terrestre: forma circa $^1/_4$ del peso dell'atmosfera, $^8/_9$ del peso dell'acqua e circa la metà del peso della crosta terrestre, la quale è costituita quasi solamente da combinazioni ossigenate.

L'O è il solo elemento che partecipi ai fenomeni della vita, allo stato libero.

Giunge all'organismo vegetale in parte come O libero (respirazione) in parte come H^2O e CO^2, da cui esso ne scinde una parte, formando composti più poveri di O e più ricchi di C e di H, i quali servono all'animale come cibo e come sorgente di forza, ricombinandosi con l'O libero, che viene poi nuovamente eliminato in forma di CO^2 e d'H^2O.

V'è dunque un antagonismo fra animali e piante relativamente all'O e al CO^2, antagonismo che mantiene costante la quantità di questi gas nell'aria. Secondo Bunge, un disturbo di questo equilibrio può esser apportato da due cause principali:

1. Da una diminuzione dell'CO^2 dovuta alla formazione di giacimenti di carbon fossile, derivanti dalle piante. Essi rappresentano dell'CO^2 seppellito e sottratto alla circolazione della vita. Ma esso ritorna in parte nell'atmosfera per effetto della combustione di quel materiale.

2. Più temibile è la seguente causa di diminuzione dell'CO^2 atmosferico.

Questo a bassa temperatura e in presenza di acqua sposta l'acido silicico della crosta terrestre, combinandosi con le basi dei silicati, formando dei composti insolubili, nei quali il CO^2 è imprigionato in una forma destinata ad essere per sempre sottratta alla circolazione della vita. Per contro nelle viscere della terra, a cagione dell'elevata temperatura che ivi regna, l'acido silicico conquista le basi dei carbonati, e l'CO^2 fatto libero si sprigiona dai crateri dei vulcani attivi, diffondendosi nell'aria in pascolo agli organismi vegetali.

Sembra, però, che la quantità di CO^2 che in tal modo vien messa in libertà sia molto minore di quella che viene continuamente sottratta alla vita; e dato che il nucleo igneo della terra debba, prima o poi, raffreddarsi, la prima finirebbe con l'abolirsi intieramente, e con esso la vita degli esseri sulla terra.

Anche l'O dell'atmosfera è continuamente sottratto alla vita dall'ossidulo di Fe, che si cambia in ossido, depositandosi nella crosta terrestre. Ne può essere in parte assai piccola nuovamente liberato

dall'ossidarsi di sostanze organiche decomponentisi in presenza e a spese dell'ossido di Fe, e tornare nell'aria, in forma di CO^2.

Si pensi, però, che la sola funzione clorofillica può mettere in libertà dell'ossigeno, e che a questa stanno di contro la respirazione, la putrefazione, la combustione, l'ossidazione dei composti di Fe e di S: tutti processi che tendono sempre a diminuire la quantità di O libero dell'atmosfera.

Sembra, dunque, che tanto l'CO^2 quanto l'O siano in continua diminuzione, e che perciò ineluttabilmente con la loro scomparsa troverà il suo termine la vita (BUNGE).

§ 3. **Idrogeno.** — Anche l'**H** si trova in diversi stati:

1.° Entra nella costituzione di tutte le sostanze organiche, e in un certo numero di sostanze inorganiche e di derivati dalle prime.

Oltre ai gruppi, in cui entra insieme con l'O, e che furono ricordati a proposito di questo, l'H si trova anche in forma di gruppi carboidrati: CH, CH^2, CH^3, C^6H^6; in combinazione con l'N, nei gruppi: imidico, NH; amidico, NH^2; ammoniacale, NH^3; cianamidico, CN^2H^2; cianidrico, CNH; ciamidico, CNH^2; cianico, $CONH$; ecc.

2.° Allo stato di dissoluzione, nel pus; forse, anche, nel sangue, perchè assorbito dall'intestino.

3.° Allo stato libero, nell'aria espirata, nel tubo intestinale, e propriamente: 3,55 % nello stomaco, 5,4-11,6 % nell'intestino tenue, 7,5 % nel crasso (CHEVREUL); e finalmente nei prodotti gasosi della perspirazione cutanea (PETTENKOFER).

Nell'intestino, l'H può nascere dalla fermentazione butirrica del contenuto; passa quindi nel sangue, e di qui nell'aria espirata. Inoltre è probabile che una certa quantità d'H sia messa in libertà per effetto delle azioni chimiche che si svolgono nelle cellule viventi; in questo stato esso avrebbe una potente attività riduttrice, e, secondo HOPPE-SEYLER, servirebbe a rendere attivo l'O nei processi di ossidazione.

L'idrogeno condensato dai metalli, specialmente dal palladio (*Hydrogenium* di GRAHAM), ha le proprietà dell'H allo stato nascente.

Esclusivamente come H^2O e NH^3 giunge l'H all'organismo vegetale, e partecipa alla formazione delle sostanze organiche.

Noi introduciamo giornalmente, coi nostri cibi e con le nostre bevande, circa 40 gr. d'H, ed altrettanto ne eliminiamo per le diverse vie d'escrezione, o in forma di H^2O e di NH^3, o in forma di combinazioni più complesse, rappresentanti prodotti del nostro catabolismo, che più o meno rapidamente all'aria poi si decompongono, con formazione di H^2O e NH^3.

§ 4. **Carbonio.** — Il C costituisce circa il 50 % dell'organismo disseccato *in toto*, ed è l'elemento principale di esso.

I gruppi, in cui entra il C, sono essenzialmente quelli ricordati a proposito dell'O e dell'H.

Il C si trova alla superficie del nostro pianeta in gran parte combinato con l'O, in forma di CO^2: del quale solo una minima parte è libera nell'atmosfera o assorbita nell'acqua, mentre la massa principale forma grandi strati della superficie terrestre, combinato con CaO e con MgO. Il C si trova allo stato libero nel carbon fossile, nella grafite e nel diamante. Quasi tutto il C della nostra terra dunque è, o è stato, CO^2; sotto questa forma è assunto dalla pianta e sempre in CO^2 torna qualsiasi combinazione di esso (BUNGE).

Noi introduciamo giornalmente circa 280 gr. di C, ed eliminiamo la più gran parte di esso allo stato di acido carbonico, per la respirazione.

§ 5. **Azoto.** — L'N deve la sua grande importanza alla parte essenziale ch'esso prende nella composizione

1.° Delle sostanze proteiche e dei prodotti azotati che ne derivano. Per questa ragione, il bilancio dell'N è preso generalmente come indice del bilancio nutritivo dell'intiero organismo. In rapporto al C si trova nella carne muscolare magra come 1 : 3,28 (PFLÜGER), e nelle proteine pure nella proporzione media del 15,2 — 16 %.

2.° L'N trovasi inoltre in combinazione con l'O a formare i nitrati e i nitriti, importanti nella nutrizione dei vegetali.

3.° Trovasi allo stato libero nelle vie aeree e nel tubo digerente, provenendo quasi intieramente dall'aria atmosferica inspirata o deglutita.

4.° Allo stato di dissoluzione, trovasi nel sangue e in altri liquidi dell'organismo, in tracce.

Non è ben certo se vi sia una produzione di N libero nell'interno dell'organismo, e se l'aria espirata contenga veramente una quantità di N maggiore dell'aria inspirata.

Le ricerche recenti di VOIT, LEO e PFLÜGER hanno dimostrato che quella quantità in più d'N è straordinariamente piccola e rientra nei limiti degli errori inevitabili. Ma TACKE ultimamente, confermando i resultati di REGNAULT e REISET, DULONG, DESPRETZ, BOUSSINGAULT, e specialmente quelli di SEEGEN e NOWAK, ha trovato costantemente un'eliminazione di N libero per i polmoni, che aumenta quando s'introduce nello stomaco una soluzione di nitrato o nitrito d'ammonio.

L'N ha poca affinità per gli altri elementi, e in ciò SPENCER vedeva un carattere importante per la costituzione della materia vivente.

Per ciò anche forma, come elemento libero, circa $^4/_5$ dell'atmosfera. Solo una piccola quantità si trova combinata in forma minerale, come NH^3 e HNO^3 e HNO^2, e in questa forma prevalentemente

prende parte ai processi della vita, giacchè come N libero è forse assorbito dalle piante solo in piccolissima quantità (BERTHELOT ed altri più recenti).

Penetrato così nelle piante, contribuisce alla formazione dei più complessi corpi organici (sostanze proteiche), i quali poi sono ingeriti dall'animale, che li trasforma ed elimina come urea, acido urico, ecc., i quali si decompongono in seguito in NH^3 e composti nitrici e nitrosi.

Il processo vitale non è causa di scomparsa dell'N utilizzabile dalle piante; sì bene la combustione dei vegetali, l'incinerazione dei cadaveri animali e lo sparo delle polveri ricche di nitrati: processi che dovrebbero essere ridotti al minimo inevitabile, poichè essi non sono equilibrati che da due soli processi formatori di combinazioni inorganiche dell'N: la formazione di nitrito d'ammonio dovuta alle scariche elettriche temporalesche (BERTHELOT):

$$(2\,N + 2\,H^2\,O = N\,H^4\,N\,O^2),$$

e la formazione di $N\,H^4\,N\,O^3$ durante l'evaporazione delle acque, che si trovano alla superficie della terra (SCHÖNBEIN).

Gli elementi passati finora in rivista assumono, come abbiamo veduto, durante alcune fasi del loro ciclo metabolico nei vegetali e negli animali, lo stato gasoso, o per sè soli o in alcune delle loro combinazioni più elementari. In ciò essi si distinguono dai rimanenti. Prima di prendere in considerazione questi, vogliamo per ciò riportare qui (pag. 12) due tabelle del BEAUNIS, in cui a colpo d'occhio si possono vedere le quantità di gas disciolto esistenti in vari liquidi dell'organismo, riportate a 0^0 C e a 760 mm. di pressione.

§ 6. **Solfo.** — Lo S:

1.° Entra nella costituzione delle sostanze proteiche e dei loro derivati istogenetici. Nell'incinerazione di queste sostanze, lo S si ossida e si combina con le basi dei carbonati e degli altri sali minerali, formando solfati: non si può dunque da ciò arguire la preesistenza di acido solforico o dei suoi sali nei tessuti e liquidi dell'organismo.

Il rapporto dello S all'N nelle proteine vere è di 1 : 16.

Come lo S si trovi associato agli altri elementi della molecola proteica non si conosce.

2.° Lo S entra nella composizione di alcuni prodotti azotati derivanti dalle sostanze proteiche, quali la taurina, la cistina, ecc.

3.° Si trova combinato nei sali, in forma di:

a) Solfati alcalini, che esistono normalmente nel sangue, e nella maggior parte dei tessuti e liquidi dell'organismo, ad eccezione del latte, della bile e del succo gastrico. Essi provengono in piccolissima parte dagli alimenti; ma se ne formano anche nell'organismo per ossidazione dello S delle sostanze proteiche (due terzi circa dei

Tabella seconda.

Quantità di gas, in cc., contenuta in 100 cc. di liquido.

Gas	Sangue arterioso	Sangue venoso	Siero arterioso	Linfa	Siero ascitico	Latte	Bile di cane (alim. animale)	Bile di cane (alim. vegetale)	Saliva di cane	Orina	Succo muscolare	Albume d'uovo	Pus
CO^2	50,00	60,00	50,00	46,90	142,00	10,00	7,36	73,81	74,93	18,09	15,40	66,76	75,28
N	2,00	2,00	2,00	1,67	21,10	1,05	0,78	0,52	0,92	1,21	4,90	3,77	2,50
O	20,00	10,00	1,47	0,13	0,14	0,11	0,00	0,26	0,65	0,10	0,09	2,31	—
H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5,16
Totale	72,00	72,00	53,47	48,70	163,24	11,16	8,14	74,59	76,50	19,40	20,39	72,84	82,94

Tabella terza.

Quantità di gas, in cc., contenuta in 100 cc. di gas.

CO^2	69,46	83,35	94,54	96,30	87,00	89,51	90,33	98,95	97,93	93,20	74,30	91,66	90,77
N	2,77	2,77	3,15	3,43	12,92	9,42	9,67	0,70	1,20	6,23	25,20	5,17	3,01
O	27,77	13,88	2,31	0,27	0,08	1,07	—	0,35	0,89	0,57	0,50	3,17	—
H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	6,22

solfati eliminati con l'orina hanno quest'origine, PARKES), essendo ormai dimostrata la possibilità dello S di ossidarsi nell'organismo. Infatti l'ingestione di S (KRAUSE ed ETZINGER, REGENSBURGER) e l'alimentazione carnea (VOGEL, CLAVE, B. JONES) aumentano i solfati nelle orine; e, secondo KÜNKEL, il 60-70 % dello S ingerito

con la carne si ritroverebbe allo stato di solfati nell'orina. L'eliminazione dell'urea e quella dei solfati decorrono parallelamente (BENEKE e BEALE); lo S, dunque, come l'N, può servire da indice del bilancio della materia nell'organismo vivente;

b) Sali degli acidi solfo-coniugati;

c) Iposolfiti alcalini, nell'orina del gatto e del cane, e in quella di coniglio dopo l'ingestione di taurina;

d) Solfo non ossidato, che aumenta nell'alimentazione carnea, e che si trova nell'orina nella proporzione di circa 25-30 % del S totale (ved. in seguito);

e) Solfocianuro di K e di Na, nella saliva e, in traccia, nell'orina, nel sangue e nel latte (?);

f) Solfuro di Fe e solfuri alcalini, negli escrementi.

4.° Lo S si trova finalmente combinato all'H, allo stato di H^2S, nell'intestino.

Nella natura inorganica si trova per lo più come sale (solfato) degli alcali e delle terre alcaline, sotto la qual forma giunge alle piante, che lo utilizzano incorporandolo nella sintesi delle proteine. Queste decomponendosi, ossidandosi nell'organismo animale, mettono in libertà lo S, che di nuovo, sotto forma di solfati alcalini, torna alla natura inorganica.

Secondo il BUNGE, lo S, come il Fe, agisce come veicolo dell'O, perchè le sostanze organiche in decomposizione, trovandosi in presenza di ossidi di Fe e di solfati, sottraggono l'O agli uni e agli altri, formandosi Fe S, che, in contatto dell'aria, può essere di nuovo ossidato, e così via.

I solfati, quando anche esistessero in quantità considerevole nell'alimentazione, si sottrarrebbero in massima parte al riassorbimento, perchè nell'intestino si trasformerebbero in $CaSO^4$ e Ca S, insolubili.

Secondo VOIT il cane, durante la dieta carnea e per ciò ricca di S, elimina con le feci 3,4-10,6 % dello S ingerito: esso risulta dello S di resti proteici, di epiteli sfaldati, di succhi digerenti non riassorbiti (del solfocianuro potassico della saliva, della taurina, della bile), e di quello che risulta dalla putrefazione delle proteine e che si trova in forma di H^2S, Fe S, e solfuri alcalini.

§ 7. **Fosforo.** — Il **P** si trova nell'organismo negli stati seguenti:

1.° Si trova in combinazione organica nelle nucleine e nella lecitina e loro combinazioni più complesse. Il rapporto $N : P^2O^5$ nei muscoli è uguale a 7,6 : 1.

2.° Allo stato di fosfati, dei quali i principali sono:

fosfato di Na.... [Na^3PO^4, Na^2HPO^4, NaH^2PO^4]

fosfato di K.... [K^3PO^4, K^2HPO^4, KH^2PO^4]

fosfato di Ca... $[Ca^3(PO^4)^2, CaH^4(PO^4)^2, CaHPO^4$ che si trova nelle cellule animali o vegetali aventi reazione acida,

fosfato di Mg.... $[Mg^3(PO^4)^2, MgHPO^4 + 7H^2O, Mg^2P^2O^7]$

fosfato di NH^4 e Mg.... $[MgNH^4PO^4 + 6H^2O]$.

I fosfati predominano nel sangue dei carnivori, i carbonati in quello degli erbivori. I fosfati di K predominano nei muscoli, nelle cellule in generale, nel cervello; i fosfati di Ca, nel latte in cui sono in parte combinati con la caseina, nelle ossa e nei denti.

3.° Secondo LÉPINE, nell'orina esiste circa l'1 % di P incompletamente ossidato, in una combinazione tuttavia mal determinata.

Negli erbivori, che hanno l'orina alcalina, questa contiene tracce di P^2O^5.

Ricordiamo che, nell'uomo,

il sistema nervoso	contiene	circa	12 gr.	di H^3PO^4	*in toto*	
» muscolare	»	»	130 »	»	»	
» osseo	»	»	1400 »	»	»	

L'acido fosforico, che è eliminato per l'orina e per le feci, proviene in massima parte dall'alimentazione; ma una certa quantità si può anche formare nell'organismo, per la decomposizione della lecitina, delle nucleine e di altre sostanze fosforate.

La circolazione del P è affatto simile a quella dello S.

Noi non sappiamo però se i composti organici del P, che riceviamo con gli alimenti, siano assorbiti come tali e vadano a sostituire quelli che man mano vengono distrutti ed eliminati, o se i derivati inorganici dei primi e le combinazioni inorganiche di P che prendiamo con gli alimenti siano solamente assorbiti e utilizzati dalle cellule dei nostri tessuti nella sintesi delle complesse sostanze fosforate organiche. Finora è stato ritenuto che tanto le lecitine, quanto le nucleine non sono assorbibili come tali, o in piccolissima quantità; così che la seconda ipotesi sembrò più probabile (ved. in seguito).

La quantità di P che noi assorbiamo coi suoi sali inorganici è maggiore di quella organicamente combinata. I primi sono facilmente assorbiti, e ricompariscono poi nell'orina.

Nella dieta carnea l'orina contiene il 94 % del P^2O^5 introdotto. Il 6 % è eliminato per le feci, che ne contengono anche nel digiuno. Nella dieta mista, l'orina contiene circa l'80 %, le feci circa il 20 % di P^2O^5.

Come la dieta carnea, arricchisce l'orina di P^2O^5, così un alto contenuto in Ca del chimo e una reazione alcalina dell'orina aumentano la quantità di P^2O^5 eliminata nelle feci. v. NOORDEN osservò che il contenuto giornaliero dell'orina in P^2O^5 da gr. 3,65-2,82-2.80 si abbassò a gr. 1,90-1,10-1,15 per l'aggiunta di circa gr. 22 di $CaCO^3$ alla dieta mista giornaliera.

Allo stesso modo agisce l'ingestione di una quantità tanto abnorme

di alcali, che l'orina diventi alcalina, purchè si accompagni con una ricca ingestione di sali di Ca.

La composizione degli alimenti ha dunque una grande influenza sul modo di eliminazione del P.

Secondo BEAUNIS, l'ufficio fisiologico dei fosfati è molto importante, come indica la loro presenza in tutti i tessuti e la loro predominanza nei globuli del sangue, nei muscoli, nei nervi e negli elementi in via di formazione. Sembra infatti che gli elementi organici abbiano una speciale affinità per l'acido fosforico; così i muscoli degli erbivori ne contengono in tanta quantità quanto quelli dei carnivori, benchè, nei primi, il sangue e gli alimenti ingeriti contengano molto meno fosfati che nei carnivori.

Inoltre, i tessuti, o almeno un gran numero di essi, producono durante la loro funzione degli acidi organici che decompongono i fosfati neutri o basici forniti dal sangue, trasformandoli in fosfati acidi.

Nel sangue, i fosfati alcalini, e particolarmente il fosfato di Na, contribuiscono a mantenerne l'alcalinità, e favoriscono la soluzione delle sostanze proteiche e i fenomeni di diffusione; tengono in soluzione gli urati e gli ossalati, ed esercitano un'influenza sull'assorbimento dell'CO^2 da parte del sangue.

§ 8. **Cloro.** — Il **Cl** esiste:

1.° Allo stato di H Cl libero o combinato con le materie proteiche nel succo gastrico. Questo Cl nell'intestino torna a combinarsi con gli alcali, ed è riassorbito, ritornando al sangue, donde s'era partito, in forma di Na Cl.

2.° Allo stato di cloruro di Na, di K, di Ca, fa parte di tutti i liquidi e tessuti del corpo. Questi cloruri in gran parte sono disciolti, ma in parte debbono essere considerati come combinati più o meno labilmente con le sostanze proteiche.

Il Cl percorre tutto il ciclo metabolico in forma di **cloruro**, ed è notevole il fatto che esso non entra a far parte propriamente della sostanza vivente, benchè le sia tanto indispensabile compagno.

§ 9. **Fluoro.** — Il **Fl** esiste allo stato di Ca^2 Fl nelle ossa, nei denti, nel sangue e nell'orina, in tracce.

Il suo ufficio fisiologico è sconosciuto, ma la sua diffusione negli organismi è forse maggiore di quello che si credeva.

Infatti il TAMMANN ne ha trovato gr. 0,001 $^0/_0$ nel tuorlo d'ovo, gr. 0,0007 $^0/_0$ nel cervello di vitello, gr. 0,0003 in un litro di latte di vacca, e si riconosce qualitativamente in 300 c.c. di sangue di vacca.

La ricerca di esso e il suo dosaggio sono molto difficili. Del resto il Na Fl è uno dei più potenti veleni degli elementi cellulari viventi; in proporzione di 4-5 centigrammi per chilogramma di animale, abo-

lisce, per esempio, la funzione specifica degli elementi epiteliali dell'intestino, ecc.

§ 10. **Sodio.** — Il Na esiste, in maggiore o minore quantità in tutti i tessuti e liquidi dell'organismo, combinato con gli acidi inorganici ed organici.

La sua più importante combinazione è il Na Cl, che prevale nei liquidi dell'organismo, come il plasma sanguigno, la linfa, la bile, il sudore, il succo pancreatico, l'orina.

La sua quantità totale nell'organismo umano può essere valutata a circa 200 gr.

Il Na Cl proviene tutto dall'alimentazione, in quantità di circa 15-20 gr. al giorno, o come sale contenuto propriamente negli alimenti, o aggiunto ad essi nella loro preparazione. Esso viene eliminato nella stessa proporzione principalmente per l'orina, e in parte anche per il sudore, la saliva, il muco, gli escrementi.

Ma vi dev'essere nell'alimentazione eccesso di Na Cl, perchè è esso che fornisce il Cl al K Cl dei globuli rossi e dei muscoli, all'acido cloridrico del succo gastrico, non che il Na alla bile.

Il Na Cl è quasi completamente assorbito dal tubo digerente; poichè nelle feci normali si trovano piccolissime quantità di Cl e di Na (frazioni di 1 gr.); e non solamente il Na Cl degli alimenti, ma anche l'H Cl, la $Na^2 O$ e il Na Cl dei succhi digerenti sono in massima parte facilmente riassorbiti.

L'ufficio fisiologico del Na Cl sembra essere molto importante:

a) Esso facilita i fenomeni di diffusione che si svolgono nell'organismo. Se si inietta nell'intestino d'un animale dell'albume d'ovo, esso è assorbito solamente se vi si aggiunge del Na Cl;

b) Ha influenza sul metabolismo organico. Esso infatti aumenta la disassimilazione delle sostanze proteiche e la quantità d'urea eliminata per l'orina, aumentando nello stesso tempo la quantità totale d'orina.

c) Faciliterebbe l'assorbimento dei peptoni dal tubo intestinale, e varrebbe a trattenere nell'organismo i corpi proteici, che altrimenti andrebbero scomponendosi senza utilità per il ricambio materiale del protoplasma, e forse con svantaggio dell'organismo (Baldi).

Ma su ciò torneremo in seguito.

§ 11. **Potassio.** — Il K si trova nell'organismo in combinazioni simili a quelle in cui si trova il Na. La più importante è anche:

Il K Cl, che accompagna da per tutto il Na Cl. Ma mentre i sali di Na prevalgono nei liquidi, ed eccezionalmente nei globuli rossi, di alcuni animali, i sali di K prevalgono negli elementi morfologici come le emazie, il tessuto muscolare, nervoso, ecc., ed in via eccezionale nel latte.

Ciò resulta evidentemente dalla qui annessa tabella:

Tabella quarta

dimostrante le quantità di Na Cl e K Cl contenuti nei principali liquidi dell'organismo e nei globuli rossi del sangue.

Liquidi	Na Cl	K Cl	Liquidi	Na Cl	K Cl
Sangue	2,70	2,05	Succo pancreatico (da fistole permanenti)	2,50	0,93
(Glob. rossi)	—	3,67	Succo pancreatico (da fistole temporanee)	7,35	0,02
Plasma del sangue	5,54	0,35	Bile	5,53	0,28
Linfa	5,67	—	Latte	0,87	2,13
Chilo	5,84	—	Orina	11,00	4,50
Succo gastrico	1,45	0,55			

I sali di K provengono anch'essi dall'alimentazione, specialmente vegetale, sono facilmente assorbiti, come risulta dal fatto che il K degli alimenti ricomparisce rapidamente nell'orina (FORSTER), ma non così completamente come i sali di Na. Le feci, infatti, contengono sempre, anche nel digiuno, sali potassici (0,35 % di K^2O, vale a dire circa gr. 0,5 di K^2O *pro die,* nelle feci fresche dell'uomo, KÖNIG), mentre nell'orina si trovano giornalmente in media circa gr. 2,0-2,5 di K^2O. Resta però a determinare quanta della K^2O trovata nelle feci derivi dai resti alimentari e quanta dai secreti e dagli elementi morfologici sfaldati dal tubo digerente.

Importante è l'ufficio dei sali di K:

a) Secondo KEMMERICH, sarebbero indispensabili nell'alimentazione; ma PANUM e FÖRSTER hanno in seguito dimostrato che la quantità di P e di K necessaria all'organismo è certamente molto minore di quella che credettero LIEBIG, KEMMERICH e J. LEHMANN.

L'azione del K sull'organismo sarebbe, per ciò, piuttosto un'azione stimolante che una vera azione nutritiva, fatta astrazione dalla quantità necessaria alla costituzione degli elementi anatomici.

b) In piccola dose, i sali di K eccitano l'attività circolatoria, elevano la pressione del sangue, accelerano e rinforzano le contrazioni del cuore (AUBERT, DEHN, BOTTAZZI, ecc.);

c) L'azione stimolante del caffè, del brodo e dell'estratto di carne, e in generale delle ceneri dei tessuti, dev'essere, in parte, attribuita ai sali di K;

d) In dose di poco superiore, i sali di K sono potenti veleni del protoplasma cellulare e particolarmente degli elementi muscolari (BERNARD);

e) In generale, i sali di K possono ritenersi come sostanze favorevoli e stimolanti i processi anabolici che si svolgono nell'organismo (BOTTAZZI);

f) Secondo KNAPP, la fermentazione dello zucchero si svolge più rapidamente sotto l'azione dei sali di K.

§ 12. **Calcio.** — Il Ca si trova nell'organismo allo stato di fluoruro, fosfato, carbonato, solfato, cloruro, urato, ossalato, citrato, ecc.

1. Il $Ca\,Fl^2$ si trova, come abbiamo visto, nelle formazioni ossee. WILSON e HOSFORD ne hanno constatato delle tracce nel sangue, nel latte e nel cervello (?).

2. Il fosfato di Ca si trova in tutti i tessuti e liquidi, i quali lasciano tutti, nell'incinerazione, ad eccezione del tessuto elastico, un residuo fatto principalmente da fosfato calcico: ciò che fa pensare che questo sale, o per lo meno il Ca, non è solamente in soluzione o in sospensione, ma chimicamente combinato con la sostanza proteica.

La combinazione di una parte almeno del Ca non dev'essere molto forte: gli ossalati precipitano infatti il Ca dal plasma sanguigno, ed anche il fosfato calcico legato alla caseina si lascia facilmente distaccare.

(Sullo stato del fosfato calcico nelle ossa, ved. queste).

3. Il $Ca\,C\,O^3$ esiste negli otoliti, nell'orina e nella saliva degli erbivori, e accompagna il fosfato nelle ossa, nei denti, ecc.

4. Il $Ca\,Cl^2$ s'incontra nel succo gastrico, come prodotto secondario.

5. Probabilmente il $Ca\,S\,O^4$ deriva dall'ossidazione delle proteine.

6. Gli urati e ossalati si trovano nei sedimenti orinari; il citrato di Ca nel latte.

La maggior quantità del Ca proviene dagli alimenti, specialmente vegetali, in cui trovasi in combinazione organica e inorganica, e dall'acqua potabile che ne contiene sempre in quantità sufficiente.

Secondo RISELL, è probabile che una parte del $Ca\,C\,O^3$ ingerito si decomponga nell'intestino dando luogo, in presenza dei fosfati acidi, alla formazione di fosfato di Ca, che passa nel sangue, e poi nei tessuti.

È possibile anche che questa trasformazione del carbonato in fosfato si faccia nel sangue e nei tessuti medesimi. VALENTIN infatti trovò che le ossa più giovani sono più ricche in $Ca\,C\,O^3$, che nelle ossa adulte è poi sostituito da fosfato.

Per contro, una parte dell'$C\,O^2$, proveniente dall'ossidazione degli acidi organici, può dar luogo alla formazione di $Ca\,C\,O^3$.

(Sull'importanza del Ca nell'alimentazione dei bambini e nella formazione e accrescimento delle ossa, vedasi a proposito del LATTE e delle OSSA).

È certo che sono assorbibili non solamente le combinazioni organiche ma anche quelle inorganiche del Ca, poichè il contenuto in $Ca\,O$ dell'orina aumenta (da 0,28–0,31 e 0,22–0,27 a 0,7–0,98 e rispettivamente 0,73–0,08 *pro die,* SOBOROW) per l'introduzione di queste.

L'assorbimento dei sali inorganici di Ca, e per conseguenza la loro eliminazione per l'orina, sono influenzati dalla qualità del sale ingerito e dalla quantità di $H^2\,O$ e di $Na\,Cl$ che è ingerita insieme coi

sali di Ca, perchè ogni sale inorganico di Ca nello stomaco è dapprima trasformato in $CaCl^2$. La quantità di CaO eliminata per i reni è appena il 5-10 % di quella ingerita; la parte principale è eliminata con le feci, e risulta di quella non assorbita e di quella escreta per la parete intestinale, che è il luogo elettivo di escrezione della CaO (F. MÜLLER). Ciò va tenuto in molta considerazione nelle ricerche quantitative sul metabolismo del Ca.

L'eliminazione dei sali di Ca si fa differentemente negli erbivori e nei carnivori. Nei primi, si eliminano sopratutto per l'intestino, più che nei secondi; negli uni si trovano specialmente allo stato di fosfati, negli altri allo stato di carbonati (BEAUNIS).

Una piccola parte di sali di Ca è anche eliminata coi prodotti epidermici.

Il Ca dei vegetali (pane) comparisce meno nell'orina di quello degli alimenti animali (BUNGE); dopo l'ingestione di fosfato acido di Ca si trova nell'orina più Ca che dopo l'ingestione di sali basici (TEREG e ARNOLD); l'aggiunta di HCl favorisce l'eliminazione renale del Ca (SCHETELIG), mentre l'H^2SO^4 e gli alcali la diminuiscono di poco (BECKMANN).

§ 13. **Magnesio.** — Il Mg s'incontra nell'organismo allo stato di fosfato e di carbonato: il primo accompagna sempre il fosfato di Ca, e anzi nei muscoli e nel timo si trova in quantità maggiore di questo (GORUP-BESANEZ). Proviene dagli alimenti.

Il Mg è eliminato in parte per l'orina, in parte per le feci. Nei carnivori vi si trova allo stato di fosfato, la cui soluzione è favorita dall'acidità dell'orina; negli erbivori, sia allo stato di carbonato derivante dalla doppia decomposizione dei fosfati di Mg dell'alimentazione e dei carbonati alcalini, sia allo stato di fosfato magnesico e ammonio-magnesico in sospensione nell'orina.

Gli escrementi, e principalmente quelli degli erbivori, contengono il Mg sotto forma di fosfati semplici, di fosfati doppi d'NH^4, di palmitati e stearati.

La sua importanza fisiologica è sconosciuta.

Le nostre cognizioni sull'assorbimento ed eliminazione dei sali di Mg sono meno progredite di quelle del Ca.

Essi sono eliminati più per l'orina che per le feci (FR. MÜLLER), così che dobbiamo giudicare il loro assorbimento relativamente facile. Del Mg che si trova nelle feci, per altro, una parte deriva da quello non assorbito, ma un'altra parte è senza dubbio costituita da quello escreto per la parete intestinale. Gli alcali e gli acidi non hanno alcuna influenza sulla sua eliminazione renale (BECKMANN, GAEHTGENS).

§ 14. **Ferro.** — Il Fe trovasi nell'organismo dovunque in combinazione organica: nell'emoglobina delle emazie, nell'ematogene del tuorlo dell'uovo degli uccelli, nell'epatina, nella ferratina e negli

altri albuminati del fegato, della milza e del midollo delle ossa, in alcuni pigmenti provenienti dall'emoglobina (melanine, ecc.), dei capelli, dell'occhio, ecc.

Minore quantità di Fe trovasi nel chilo, linfa, bile, latte, orina, succo gastrico, ecc.

(Per lo stato del Fe nei suoi vari composti, ved. OVA, EMAZIE, FEGATO, MILZA, ecc.).

Il Fe trovasi sulla terra combinato all'O come ossidulo e ossido, e sotto forma di sali di queste due basi. Secondo il BUNGE, il Fe ha molta importanza in natura, perchè è un inesauribile veicolo dell'O e dell'CO^2, e provvede perchè il C non rimanga inerte sulla terra, e torni sempre di nuovo nell'atmosfera per ripartecipare alla circolazione della vita. Infatti dalla decomposizione dei silicati di ossidulo di Fe si forma il carbonato ferroso solubile in acqua contenente CO^2, il quale a contatto dell'aria si ossida in ossido ferrico, liberando l'CO^2. Ma l'ossido ferrico, venendo a contatto di sostanze organiche in decomposizione, si riduce in ossidulo, e questo si combina con altro CO^2, che poi nuovamente cede all'atmosfera.

Anche nell'organismo animale, il Fe compie la funzione di servire da veicolo all'O, incorporandosi nel nucleo pigmentato della molecola emoglobinica, la quale permette a quell'elemento, relativamente più pesante, di rimaner sospeso nella corrente sanguigna (BUNGE).

Il Fe è assorbito dalle piante in forma inorganica e incorporato in prodotti proteici, non ancora ben conosciuti, che sono poi l'origine dell'emoglobina degli animali. Ma anche durante la sua dimora nelle piante, esso possiede una funzione importante, come è dimostrato dal fatto che esso è indispensabile alla formazione della clorofilla, che per sè stessa ne è priva.

Un giovane coniglio di 14 giorni contiene gr. 0,044, un giovane gatto di 19 giorni gr. 0,047 di Fe per chilogramma di peso del corpo; così un uomo del peso di 70 Kgr. verrebbe a contenere *in toto* gr. 3,1-3,3 di Fe. Quasi tutto il Fe si trova nel sangue e propriamente nell'emoglobina; il sangue contiene 0,049-0,051 % di Fe (C. SCHMIDT).

Secondo il BUNGE, il Fe viene assorbito sempre in forma di combinazioni organiche, quali sono contenute negli alimenti (tuorlo d'ovo, latte, muscolo, semi vegetali, ecc.). Ciò è vero, in generale, quante volte si ammetta che qualunque sale inorganico del Fe, introdotto nel tubo digerente, incontrando sostanze proteiche ed alcali nell'intestino, formi una combinazione che possiamo dire organica (CERVELLO), la quale vien poi assorbita. Non si deve per ciò ritenere che i sali inorganici siano inassorbibili, ed è affatto inutile, secondo il CERVELLO, la preparazione di speciali prodotti assorbibili, estratti da organi animali, quali la *ferratina* di SCHMIEDEBERG e MARFORI,

e gli altri innumerevoli albuminati di ferro che vanno in commercio (ved. PROTEINE).

Certamente qualsia sale di ferro, compresi gli albuminati, venga introdotto nello stomaco, esso si trasforma innanzi tutto in $Fe\,Cl^2$.

In questi ultimi anni si è molto discusso sull'assorbimento del Fe medicinale, e sul modo migliore di somministrarlo. La questione è riassunta dal v. NOORDEN, così:

È oramai stabilito che dei sali inorganici di Fe, compresi gli albuminati, quasi nessuna traccia ne ricomparisce nell'orina (circa gr. 0,001 *pro die*); da ciò alcuni conclusero che il Fe è temporaneamente sciolto dal succo gastrico, poi precipitato nell'intestino come Fe S ed eliminato con le feci; che per ciò esso non è assorbito, a meno che si somministri (nella quantità giornaliera necessaria di gr. 0,06, F. A. HOFFMANN) in forma di nucleine ferruginose (BUNGE, KOBERT) o di ematina, emoglobina, pirogallato di emoglobina: in questo caso esso ricomparisce nell'orina (SOCIN, BUSCH).

Ma il contenuto in Fe dell'orina non è l'indice dell'assorbimento del Fe, perchè il luogo elettivo dell'escrezione dei composti ferruginosi è l'intestino, il suo rivestimento epiteliale (DIETL, GOTTLIEB, JAKOBI, STENDER, KOBERT), e in via secondaria la bile (NOVI, KUNKEL, DASTRE). Si ritrova nelle feci non solamente il Fe ingerito, ma anche quello iniettato sotto la cute (GOTTLIEB); in quest'ultimo caso ne passa una parte anche nell'orina, per la gran quantità che se ne trova nel sangue (JAKOBI, KOBERT). Del Fe introdotto sotto qualunque forma e per qualunque via nell'organismo, solo una piccola parte è eliminata subito; la parte di gran lunga maggiore è immagazzinata nel fegato, e un po' anche nella milza e in altri organi. Secondo l'espressione del KOBERT, il fegato e la milza attraggono come magneti il Fe circolante nel sangue. Da questi organi esso è poi man mano ceduto ed eliminato per la via intestinale. Ciò fu dimostrato dalle esperienze di GOTTLIEB e di KUNKEL, i quali dopo l'introduzione del Fe lo ritrovarono quasi tutto nel fegato. Così fu chiarito il metabolismo del Fe, che era rimasto oscuro, finchè si studiò, come al solito, solamente l'orina o le feci.

Il Fe eliminato con l'orina va, forse, considerato come meccanicamente trascinato, allo stesso modo delle tracce di albumina e di zucchero che nell'orina anche si trovano; ma potrebbe anche derivare da speciali processi di sdoppiamento dei composti organici, donde risulterebbe una sostanza particolare capace di attraversare i reni, forse un pigmento ferruginoso, secondo GIACOSA.

Finalmente v. NOORDEN crede che il fatto della comparsa del Fe in maggior quantità nell'orina in seguito all'ingestione delle nucleine ferruginose o dei composti organici più elevati del Fe, depone contro l'uso di questi come medicamenti, giacchè dimostra che l'organismo

se ne disfà subito dopo una semplice trasformazione molecolare; mentre è da aspettarsi maggior giovamento dai veri sali di Fe, compresi gli albuminati, che vengono immagazzinati nel fegato e lì, o altrove, utilizzati nella sintesi dell'emoglobina.

§ 15. **Silicio.** — Il **Si** s'incontra allo stato di SiO^2 nei prodotti epidermici (capelli), e inoltre nelle ossa, nella bile, nell'orina (tracce).

In natura si trova allo stato di acido silicico, ed è molto diffuso. I sali alcalini dell'acido silicico sono solubili in H^2O; l'acido libero si presenta nella così detta forma colloidale solo quando è spostato da certi silicati mediante l'acido carbonico.

Se si mescola una soluzione di silicato sodico con un grande eccesso di HCl diluito, l'acido silicico liberato, dapprima sembra sciolto; ma non dializza, e si può così separare dall'HCl in eccesso e dal $NaCl$.

Attraversato da CO^2, esso coagula, separandosi in una massa gelatinosa.

Una soluzione 14 % di acido silicico è ancora un liquido mobile e apparentemente non vischioso: una soluzione 2,26 %, non coagula più per il passaggio dell'CO^2, nemmeno se riscaldata, ma coagula per il riscaldamento e l'aggiunta di $NaCl$ o $MgSO^4$.

Questo comportamento ricorda quello analogo delle globuline nei liquidi organici.

Un'altra sostanza colloide minerale possiamo preparare sciogliendo l'idrato d'allumina in una soluzione acquosa di sesquicloruro d'alluminio, e dializzando: dopo la diffusione del sale d'alluminio, rimane nel dializzatore la soluzione chiara e scorrevole di allumina pura, la quale coagula appena vi si aggiunga una piccola quantità di sale qualsia.

In simile modo si ottiene la soluzione di ossido idrato di Fe, d'aspetto rosso sanguigno e chiara, la quale ha anche molta tendenza a coagulare.

Grimaux ha mostrato che una soluzione ammoniacale di CuO si comporta come una sostanza colloide, perchè non dializza, e coagula per la diluzione con HO o per l'azione del $MgSO^4$ o dell'acido acetico diluito o di una temperatura di 40-50° C.

Ma delle proprietà dei corpi colloidali in generale e particolarmente di quelli organici parleremo in seguito, in un capitolo speciale, dopo che avremo studiate le sostanze proteiche.

§ 16. **Manganese.** — Il **Mn** accompagna in generale il Fe nell'organismo. Se ne trova nel sangue, nella bile, nei capelli, e anche nel latte, nelle ossa, nell'orina (Maumené). Fu ritenuto, in questi ultimi anni, poter sostituire il Fe nella cura delle malattie del sangue.

§ 17. **Rame. — Piombo. — Zinco.** — Il **Cu**, il **Pb**, il **Zn** si trovano accidentalmente nel fegato o nella bile.

Notevole è la presenza del Cu nel sangue di certi cefalopodi e crostacei, dove par che si trovi in combinazione organica, ed abbia per il trasporto dell'O un'importanza pari a quella che ha il Fe negli organismi superiori (Ved. Sangue).

§ 18. **Bromo. — Jodo.** — Il **Br** e il **I** si trovano negli organi di animali marini; ma non si sa se abbiano importanza in qualche funzione particolare.

CAPITOLO SECONDO

Le sostanze inorganiche.

Le sostanze inorganiche che si trovano a far parte dei liquidi e dei tessuti dell'organismo animale sono: l'acqua, i sali minerali ed alcuni gas.

Le passeremo in rassegna, sopra tutto allo scopo di vedere quale importanza ciascuna di esse ha nelle funzioni fondamentali dell'organismo vivente; giacchè delle loro proprietà particolari si occupano in special modo i libri di chimica generale.

1. — *PROPRIETÀ CHIMICO-FISIOLOGICHE.*

A. — L'ACQUA.

§ 1. **L'acqua** forma circa $^2/_3$ (63 $^0/_0$) del peso del corpo; è in quantità maggiore nell'embrione, e diminuisce a misura che si avanza in età. È maggiore anche nella donna in confronto dell'uomo, e negli individui magri relativamente maggiore che nei grassi, poichè il tessuto adiposo è il più povero di acqua; finalmente questa trovasi in minor quantità negli individui sani e ben nutriti che in individui cachettici.

Secondo BISCHOFF, si hanno le seguenti proporzioni:

	Acqua	Sostanze solide
Adulto	585,0 $^0/_{00}$	415,0 $^0/_{00}$
Neonato	664,0 »	336,0 »

Il contenuto in acqua è diverso anche secondo gli organi e i liquidi organici, come risulta dalla seguente tabella (BEAUNIS).

Tabella quinta.

Organi e tessuti	Acqua ‰	Sost. solide ‰	Liquidi organici	Acqua ‰	Sost. solide ‰
Smalto	2,0	998,0	Sangue	791,0	209,0
Avorio	100,0	900,0	Bile	864,0	136,0
Scheletro osseo	486,0	514,0	Latte	891,0	109,0
Grasso	299,0	701,0	Plasma sanguigno	901,0	99,0
Tessuto elastico	496,0	504,0	Chilo	928,0	72,0
Cartilagini	550,0	450,0	Linfa	958,0	42,0
Fegato	693,0	317,0	Sierosità	959,0	41,0
Midollo spinale	697,0	303,0	Succo gastrico	973,0	27,0
Sostanza bianca del cervello	700,0	300,0	Succo intestinale	975,0	25,0
Pelle	720,0	280,0	Lacrime	982,0	18,0
Encefalo	750,0	250,0	Umore acqueo	986,0	14,0
Muscoli	757,0	243,0	Liquido cerebro-spinale	988,0	12,0
Milza	758,0	242,0	Saliva	995,0	5,0
Timo	770,0	230,0	Sudore	995,0	5,0
Tessuto connettivo	796,0	204,0			
Reni	827,0	173,0			
Sostanza grigia corticale	858,0	142,0			
Corpo vitreo	987,0	13,0			

Fra i vertebrati, gli animali più ricchi di acqua sono gli anfibi e i pesci.

Un individuo adulto introduce giornalmente circa 2500 c. c. di acqua (2200-3500 c. c.), secondo FORSTER; ma questa quantità è variabile per ciascun individuo, e può esser di molto ridotta; essa è contenuta in parte nelle bevande (1500-2000 c. c.), in parte nei cibi (500-1000 c. c.). L'acqua è trattenuta fortemente dai tessuti, anche da un organismo digiunante; e in capo a molti giorni di digiuno, nella massima parte degli organi, la proporzione dell'acqua rispetto alle sostanze solide non è notevolmente variata.

Ciò non ostante, se la riduzione dell'acqua passa certi limiti (come nella cura di SCHROTH) i tessuti s'impoveriscono in modo assoluto di acqua. JUERGENSEN ha dimostrato questo fatto per il sangue, ed ha potuto anche provare che una privazione estrema di acqua è nociva all'economia delle sostanze proteiche dell'organismo.

La tenacia che presenta l'organismo animale a mantenere costante il suo contenuto in acqua, entro i limiti fisiologici, è dimostrata dal fatto che non è possibile arricchirlo di acqua oltre una certa misura, come si può arricchirlo di sostanze proteiche o di grasso: ogni eccesso viene in breve tempo elimato. Notevole è il fatto, risultante dalle ricerche di LAKSCHEWITZ e di BOTTAZZI, che i globuli rossi del sangue sono principalmente destinati a immagazzinare l'acqua introdotta in eccesso nel sangue, per cederla in seguito, secondo il bisogno, agli altri tessuti. Essi fungerebbero da veri regolatori del

contenuto acquoso del sangue. Se gli altri elementi morfologici siano capaci di una funzione analoga, non si sa.

§ 2. **L'acqua si trova nell'organismo**:

a) come veicolo delle sostanze disciolte o in sospensione, e costituisce così la massa principale dei liquidi dell'organismo: sangue, linfa, chilo, ecc.;

b) come acqua d'imbibizione, penetra le sostanze solide dell'organismo e si trova a far parte integrante de' suoi elementi e tessuti;

c) come acqua di combinazione, fa parte della costituzione di certe sostanze organiche, e corrisponde a ciò che in chimica si dice acqua di cristallizzazione;

d) finalmente si trova, come vapor d'acqua, nelle vie aeree.

Oltre all'acqua introdotta con l'alimento, sembra che circa il 16 % dell'acqua eliminata si formi nell'organismo: in parte dalla combinazione dell'O, che non ricomparisce nell'CO^2 quotidianamente eliminato, con l'H risultante dalla ossidazione dei grassi, o di altre sostanze organiche; in parte nei processi di sdoppiamento e di sintesi; così, per esempio, nell'unione dell'acido benzoico e della glicocolla, si forma acido ippurico e acqua.

§ 3 L'**eliminazione dell'acqua** in eccesso si fa per i reni (1500 c. c.), per la pelle e per i polmoni (800-900 c. c.), per l'intestino (100 c. c.).

Secondo PETTENKOFER e VOIT, con una alimentazione media, si elimina di acqua

	nel riposo	nel lavoro
con l'orina	1212 gr.	1155 gr.
con le feci	110 »	77 »
per perspirazione . .	931 »	1728 »
	2253 gr.	2559 gr.

vale a dire non meno del 5-6 % dell'acqua che si trova in tutto l'organismo.

La quantità d'acqua eliminata per le diverse vie varia notevolmente a seconda della temperatura ambiente, dell'umidità e dello stato dell'atmosfera, dell'attività o riposo dell'individuo, della composizione degli alimenti. Una dieta carnea favorisce l'eliminazione renale.

La quantità d'acqua eliminata, come fu detto, è approssimativamente uguale a quella introdotta giornalmente, i tessuti rimanendo sempre, entro certi limiti, ugualmente ricchi di acqua.

Considerando che tutti i processi del metabolismo animale possono compiersi normalmente solo in presenza di una sufficiente quantità di acqua, si dovrebbe credere che gli animali digiunanti, cui si sottrae anche l'acqua, dovessero viver meno di altri cui l'acqua è concessa. Invece, si osserva il fatto apparentemente strano che

animali tenuti da lungo tempo a digiuno non prendono acqua, anche se loro se ne offra a volontà. Egli è che, se l'animale digiuna in riposo, perde giornalmente tanta acqua quanta corrisponde alla perdita parallela di sostanza dei suoi tessuti, così che il contenuto percentuale dell'acqua rimane lo stesso. Un'assunzione maggiore di acqua potrebbe anzi abbreviare la vita dell'animale digiunante.

§ 4. L'**acqua serve**:

a) a facilitare l'eliminazione dei prodotti del metabolismo organico;

b) a inumidire la superficie polmonare a traverso la quale si fa lo scambio dei gas;

c) a regolare, mediante la sua evaporazione dalla superficie polmonare e cutanea, la temperatura del corpo;

d) a conferire speciali proprietà fisiche ad alcuni tessuti. MOLESCHOTT fa notare che tessuti, i quali allo stato di freschezza hanno un aspetto affatto differente e caratteristico, disseccati nel vuoto non si saprebbero più distinguere l'uno dall'altro: essi diventano tutti giallastri o giallo-rossastri, e molti più o meno trasparenti.

Il **disseccamento** abolisce l'elasticità del tessuto elastico, la flessibilità dei tendini e delle cartilagini, e provoca un accorciamento meccanico nei tessuti muscolari. Ma, secondo CHEVREUL, basta tenere immersi a lungo questi tessuti in acqua, perchè essi riacquistino le loro speciali proprietà fisiche.

Il disseccamento diminuisce e abolisce l'attività vitale (semi vegetali, rotiferi, tardigradi). Ma anche una sottrazione discreta di acqua provoca disturbi della circolazione, della respirazione, della sensibilità, del movimento, e alterazione degli elementi morfologici, specialmente delle emazie; e la morte arriva quando l'animale ha perduto circa 35 % del suo peso (TH. CHOSSAT).

L'**introduzione di acqua in eccesso** deve influire sul ricambio materiale, ma può provocare degli accidenti, che possono essere mortali (FALK, PICOT).

Il tubo digerente deve compiere un lavoro straordinario per assorbirla, il cuore per spingerla in circolo, gli apparecchi glandolari per eliminarla. Inoltre a riscaldare questa enorme massa di acqua è necessaria un'insolita produzione di calore, che è tutta a spese del ricambio.

L'introduzione di molta acqua favorisce il deposito dell'adipe; la sottrazione di essa provoca una distruzione del medesimo (OERTEL), forse per un'aumentata, ma ancora inesplicata, attività delle cellule degli altri tessuti del corpo (v. NOORDEN).

Per contro, alcune specie di animali ingrassano più facilmente, se ricevono meno acqua (HENNEBERG).

Si è molto discusso per decidere se l'aumentata eliminazione di N

nell'orina, in seguito all'introduzione di una quantità insolita di acqua, sia dovuta ad un aumento della distruzione delle sostanze proteiche (BISCHOFF, FORSTER, VOIT), o al lavaggio dell'organismo e al trasporto meccanico dei composti azotati giacenti nei tessuti (BIDDER e SCHMIDT, SEEGEN, OPPENHEIM, FRAENKEL, J. MAYER, v. NOORDEN).

Da numerose ricerche istituite in proposito, e specialmente da quelle di OPPENHEIM e di v. NOORDEN, resulta che l'aumento dell'N nell'orina si verifica solo nei primi giorni del periodo in cui il soggetto in esperimento riceve giornalmente una quantità maggiore di acqua. Questa dunque non aumenta la disintegrazione delle proteine dei tessuti, ma solamente trasporta via i composti azotati rimasti indietro.

B. — I SALI MINERALI.

§ 5. **Generalità.** — Prima di passare in rassegna i singoli composti salini, che entrano nella costituzione dei tessuti e dei liquidi dell'organismo animale, vogliamo prendere in considerazione la loro importanza generale.

Innanzi tutto, merita d'esser notato il fatto che l'organismo contiene in media circa 0,1 % di ceneri, facendo astrazione dello scheletro. Se si tien conto invece anche di questo, il contenuto medio di ceneri dell'organismo animale *in toto* può esser calcolato a circa 4,7 %.

Benchè le sostanze minerali non possano essere considerate propriamente come sostanze nutritive, in quanto che, introdotte nell'organismo, non sono capaci di sviluppare energie proprie, pure esse si dimostrano come indispensabili all'economia. Tutti gli elementi morfologici e i liquidi dell'organismo contengono una determinata quantità di sostanze minerali, la cui sottrazione altera profondamente la loro normale compagine. Esse sono contenute:

1.° come sali dei succhi organici (plasma del sangue, linfa, ecc.) e dei tessuti, rispettivamente delle cellule di questi;

2.° come sali, sulle vie del trasporto dalla mucosa intestinale al sangue e agli organi, e da questi ai diversi luoghi dell'escrezione.

I primi rappresentano una quantità costante, i secondi sono fluttuanti. Ma siccome l'escrezione dei sali è in ragione diretta del loro assorbimento, e una ritenzione di sali si verifica solamente insieme con un aumento assoluto della massa dei succhi e dei tessuti viventi, e una distruzione di questi va di pari passo con una più abbondante eliminazione di sostanze saline; così bisogna ritenere che il contenuto percentuale relativo di sostanze minerali del nostro organismo rimane costante, non ostante il fluttuare di quelle che si trovano sulle vie dell'assorbimento e dell'eliminazione. Ciò dimostra che

ogni disturbo dell'equilibrio salino viene quasi istantaneamente compensato o da una rapidissima eliminazione dei sali o da una simultanea ritenzione di acqua e di sostanze organiche disciolte.

Ecco perchè in **nessun modo si riesce ad alterare, finchè dura la vita, la normale pressione osmotica del sangue e degli altri più importanti liquidi dell'organismo** (FANO e BOTTAZZI). Se però la complessiva pressione osmotica dei liquidi organici rimane, in qualsiasi condizione fisio-patologica, costante (ved. appresso per maggiori schiarimenti), la composizione dell'insieme delle sostanze minerali che si trovano in condizioni diverse in essi disciolte dev'esser differente, poichè differenti sono il contributo che ciascun tessuto apporta alla costituzione salina dei liquidi e la peculiare attitudine dei vari tessuti a fissare questo o quel sale. Su ciò è fondato un metodo importantissimo di diagnostica locale del disfacimento o della edificazione dei diversi tessuti.

Questo metodo riconosce per principio generale il fatto che i singoli tessuti e succhi organici contengono i sali in quantità differente tra loro e in rapporto differente con l'N della loro sostanza proteica; e che tessuti e succhi mantengono energicamente inalterato il loro contenuto percentuale salino; così che, conoscendo la composizione chimica dei tessuti, dal rapporto quantitativo dei diversi sali tra loro e con l'N negli escreti, noi possiamo rilevare se determinati tessuti sono in via di accrescimento o di involuzione.

Io potrei anche dispensarmi dall'aggiungere che una simile ricerca esige un'esatta conoscenza di tutto ciò che penetra nel corpo e di tutto ciò che ne è eliminato, non solamente per i reni, ma anche per la via intestinale.

Sopra questo principio sono fondate, per esempio, le ingegnose ricerche e le geniali conclusioni del BUNGE, intorno alle relazioni esistenti fra la quantità variabile di Na Cl contenuta nell'organismo in via d'accrescimento e la trasformazione delle cartilagini embrionali in tessuto osseo, ecc.

Ma in quale stato trovansi i sali, e che importanza hanno essi nell'organismo vivente?

Ecco quanto si può dire finora intorno a questo importantissimo argomento.

§ 6. **Assorbimento dei sali minerali.** — I sali pervengono nel sangue principalmente per la via delle radici della vena porta: solo piccole quantità dall'intestino passano nei vasi chiliferi (K I e N H^4 C N S, LEHMANN).

Essi sono assorbiti, almeno in massima parte, per una speciale attività degli elementi epiteliali della mucosa del tubo digerente, come le proteine, i grassi, ecc. Qui non si può, dunque, parlare di una semplice diffusione o di processi osmotici (HEIDENHAIN), perchè

si tratta di membrane semipermeabili, che non si lasciano osmoticamente attraversare dalle molecole dei sali, che fanno normalmente parte della nostra alimentazione. Discuteremo però altrove (ved. LA CELLULA) in che modo va intesa questa attività speciale delle membrane animali fatte di cellule viventi.

Ricordiamo, intanto, alcuni principî più importanti che regolano i fenomeni osmotici in generale, e vediamo poi se l'assorbimento intestinale si compie in accordo coi medesimi.

1. Se due soluzioni acquose di eguale tensione endosmotica, sono separate da una membrana che permetta la diffusione, non ha luogo alcuna modificazione di volume dei due liquidi.

2. Se le due soluzioni hanno una differente tensione osmotica, avviene uno spostamento dell'H^2O dalla parte dove la tensione osmotica è minore verso la parte dove essa è maggiore, finchè le tensioni dei due liquidi si eguaglino.

3. La tensione endosmotica di una soluzione di diverse sostanze è eguale alla somma delle tensioni parziali delle singole sostanze disciolte.

4. Se si trovano da ambo i lati della membrana soluzioni di eguale tensione osmotica totale ma di diseguale tensione parziale delle sostanze disciolte, ciascuna di queste si sposta dal lato dove essa ha una maggiore tensione parziale verso il lato dove la sua tensione parziale è minore, finchè tutte le tensioni parziali si siano eguagliate, mentre non si verifica alcuno spostamento di acqua e i volumi totali delle due soluzioni non si alterano.

Ora HEIDENHAIN ha dimostrato che il siero di sangue, introdotto nell'intestino d'un cane, è assorbito anche se ha una pressione osmotica identica a quella del siero del sangue dell'animale in esperimento, e che l'assorbimento del siero ha luogo nell'intestino di un animale digiuno come in quello di un animale che si trovi in digestione. Inoltre egli ha trovato che durante questo assorbimento, che esclude ogni fenomeno osmotico, i sali e l'acqua sono assorbiti nella stessa proporzione in cui sono contenuti nel siero introdotto nell'intestino, mentre le sostanze organiche partecipano in molto minor proporzione all'assorbimento.

Ciò dimostra evidentemente che l'assorbimento dei sali ha luogo, secondo quell'osservatore, per effetto di speciali proprietà dello strato epiteliale della mucosa intestinale.

Ma HEIDENHAIN ha istituito delle ricerche in proposito anche con soluzioni variamente concentrate di Na Cl, per le quali egli è venuto alle seguenti conclusioni:

1.° Aumentando la concentrazione della soluzione di Na Cl introdotta nell'intestino, diminuisce la quantità assoluta e relativa dell'acqua assorbita;

2.° Con l'aumentare della concentrazione cresce la quantità assoluta, mentre diminuisce la quantità relativa del sale assorbito;

3.° Il rapporto dell'assorbimento del sale a quello dell'acqua si modifica così: che, aumentando la concentrazione, l'assorbimento

relativo dell'acqua diminuisce più rapidamente dell'assorbimento relativo del sale.

Così che, quanto minore è la concentrazione, tanto maggiore è la velocità della corrente acquosa relativamente alla corrente salina; e, quanto più aumenta la concentrazione, tanto più diminuisce l'assorbimento dell'acqua e tanto più aumenta l'assorbimento del sale, benchè questo non aumenti proporzionalmente alla concentrazione, ma più lentamente.

L'assorbimento, dunque, anche delle sostanze saline, ha luogo per opera di forze speciali, che provvisoriamente chiameremo con l'HEIDENHAIN fisiologiche, le quali vengono ad essere abolite dall'azione del Na Fl, introdotto nella proporzione del 0,04–0,05 %.

Con ciò egli non vuol negare assolutamente l'esistenza di processi osmotici durante l'assorbimento del contenuto intestinale, che potrebbero aver luogo a traverso la sostanza cementante gli epiteli intestinali.

Gli stessi resultati generali, riguardo alla natura dell'assorbimento intestinale, si potrebbero trarre dalle ricerche di ALBERTONI, il quale vide che l'assorbimento degli zuccheri si verifica tanto se s'introducono nell'intestino dell'animale soluzioni più dense, quanto se vi s'introducono soluzioni meno dense, in rapporto alla concentrazione totale del sangue, e che la densità del liquido che rimane nello stomaco è sempre diminuita e inferiore a quella del sangue, ma superiore alla densità del plasma; non che dalle ricerche di RÖHMANN, il quale vide che da una soluzione contenente 0,5 % di glicosio e 0,5 % di $Na^2 SO^4$, introdotta nell'intestino, il glicosio scomparisce quasi totalmente, mentre del sale rimane una quantità considerevole, benchè il $Na^2 SO^4$ abbia una velocità di diffusione superiore a quella dello zucchero.

§ 7. **Stato dei sali nei tessuti e liquidi dell'organismo.** — Generalmente è ammesso che le sostanze minerali si trovano nelle cellule e nei liquidi dell'organismo in parte disciolte e in parte combinate con le sostanze proteiche e loro derivati, e che questa combinazione sia in parte debole, in parte talmente forte, che nemmeno con una dialisi prolungata e mediante la cristallizzazione delle proteine si riesce ad ottenere questi corpi affatto privi di ceneri.

Degno di essere notato innanzi tutto è il fatto che **il bisogno di sali inorganici da parte dell'organismo animale è determinato dalle sostanze proteiche**, in modo quasi esclusivo; e abbiamo ragione di credere che una combinazione di queste con i sali si verifichi già al di qua della parete intestinale; che, insomma, **i sali penetrino nel sangue**, almeno in gran parte, **allo stato di combinazione proteica.**

Che nell'organismo le sostanze minerali debbano esser combinate

con le proteine, fu un principio chiaramente enunciato da CL. BERNARD sin dal 1857.

Egli affermò che, se le materie saline penetrano nell'economia allo stato libero, non possono fissarvisi che alla condizione che esse entrino in qualche combinazione organica.

Ciò vale sopratutto per i sali metallici, come per il Fe: egli infatti, molto prima del CERVELLO, del DRECHSEL, ecc., dimostrò che il lattato di ferro aggiunto al siero di sangue perde dopo un poco le sue reazioni colorate. Ma anche dei fosfati, dei cloruri, ecc., egli affermò che non si fissano negli esseri viventi se non in combinazioni organiche, cambiando completamente le loro proprietà minerali; e, quando più tardi questi sali sono eliminati, egli è ch'essi abbandonano i loro composti organici. Un'azione tossica o medicamentosa i sali minerali esercitano solamente fino al momento in cui entrano in una combinazione organica, o se sono dati in quantità talmente grande che non trovino più sostanze proteiche con cui combinarsi.

Ogni eccesso di sale è eliminato, senza essersi fissato, « perchè non avrà potuto contrarre una delle sue combinazioni organiche, che, sole, ritengono nel corpo i principii minerali, combinazioni che essi abbandonano quando devono uscirne ». Secondo questi principii, genialmente concepiti da CL. BERNARD, l'azione tossica di un sale e la costanza della composizione salina dei nostri liquidi sarebbero determinate dalla possibilità o meno che incontrano i sali di combinarsi con le sostanze proteiche.

In modo analogo si potrebbe spiegare il fatto che una ritenzione duratura di sali può avvenire solamente se viene aumentata insieme la massa dei succhi e dei tessuti; ed ora acquista un'importanza non piccola il principio enunciato da FANO e BOTTAZZI, che il combinarsi dei sali con le proteine e il loro dissociarsi deve contribuire grandemente al mantenimento della pressione osmotica costante dei liquidi organici.

« L'acqua stessa — diceva CL. BERNARD — che fa parte costituente dei tessuti e liquidi animali, sembra egualmente esservi ritenuta in determinate proporzioni per una specie di affinità chimica ».

Queste combinazioni salino-proteiche sono, in generale, ma in proporzioni assai differenti, solubili in un eccesso di liquido contenente in soluzione delle proteine; per quelle pochissimo solubili (albuminati dei metalli pesanti: rame, piombo, mercurio, ferro, ecc.), i tessuti e gli organi hanno una speciale attrazione elettiva, per cui vengono fissate temporaneamente in essi e sottratte ai succhi circolanti.

Qualcuna di esse è solubilissima, come l'emoglobina, che del resto è una combinazione con quello dei metalli pesanti ricordati, che ha-

il più piccolo peso atomico; ma anch'essa non si sottrae al principio dianzi enunciato, ed è con sufficiente energia trattenuta nelle emazie, sì che nemmeno una traccia se ne trova nei liquidi, in condizioni normali.

Ma nè i fatti sopra esposti, nè il fatto, ormai dimostrato all'evidenza, che « la inanizione minerale determina un impoverimento organico generale, rapido e progressivo, e costituisce in taluni esseri e in determinate condizioni una impronta degenerativa ed un coefficiente di malattia » (SANARELLI), ci spiegano la funzione specifica dei sali minerali.

In via generale, le sostanze minerali agiscono attivando i fenomeni di nutrizione; si tratta di un semplice fenomeno fisico, consistente nella proprietà che hanno i cristalloidi, di essere facilmente diffusibili, e di favorire il passaggio dell'acqua attraverso le membrane animali (BEAUNIS).

§ 8. **Ufficio dei sali minerali.** — Noi osserviamo che non solamente la sottrazione dell'acqua (aggiunta di soluzioni saline sature), ma anche la sottrazione dei sali (diluzione con H^2O, dialisi) dalle proteine disciolte, per esempio, nel siero del sangue, determinano la loro precipitazione. Sembra dunque evidente che i sali, in determinata quantità, favoriscano la soluzione delle sostanze proteiche.

Oltre a ciò, noi possiamo imaginare che l'assimilazione e la disassimilazione delle molecole proteiche entro le cellule viventi avvengano conformemente alla legge della doppia decomposizione. Le proteine contraggono una combinazione, per esempio, con sali di sodio, di cui sono ricchi i nostri succhi digestivi e il nostro plasma sanguigno, per cui diventano solubili e circolano nel sangue e nella linfa; queste combinazioni sodiche delle proteine circolanti, giunte a contatto delle cellule viventi, operano una doppia decomposizione con le combinazioni potassiche dei corpi azotati contenuti nel loro interno, per cui nell'impalcatura molecolare fissa della cellula si sostituisce un nucleo proteico fresco, quello contenuto nell'impalcatura molecolare della combinazione proteica circolante, il quale così si accinge ad ascendere la scala dell'anabolismo che lo conduce al grado di sostanza vivente.

Il potassio fissa da una parte la proteina circolante, e il sodio lega dall'altra i corpi azotati derivanti dal metabolismo cellulare e non atti più a funzionare: queste nuove combinazioni sodiche tornano nel sangue, e forse attraversando altri tessuti discendono man mano la scala del catabolismo, approssimandosi allo stato nel quale sono atte ad attraversare gli organi escretori. Ma può darsi che una parte dei sali di sodio, dopo aver condotto le proteine ai focolai di loro assimilazione, rimangano liberi nel sangue, e, se non possono

contrarre altre unioni organiche, vengano tosto eliminati, secondo il concetto di CL. BERNARD.

Con ciò si spiegherebbe l'antagonismo del sodio e del potassio nei liquidi e negli elementi formati del nostro organismo. Il primo, che ha un peso atomico di poco men che la metà inferiore e i cui sali sono al massimo grado solubili e diffusibili, ha il suo dominio nei liquidi organici e funge da **trasportatore delle proteine**; il secondo, dotato prevalentemente di proprietà anaboliche (BOTTAZZI), è naturale che prevalga nelle cellule, dove forse presiede, insieme con le sostanze nucleiniche, ai processi integrativi della sostanza vivente. L'antagonismo dei sali di sodio e di potassio, generalissimo negli organismi viventi, rende verisimile l'ipotesi esposta della doppia decomposizione.

Ma fin qui io ho preso in considerazione la combinazione salino-proteica già formata.

Ma come si forma essa? Si forma per una combinazione semplice della molecola salina (qualunque essa sia: cloruro, carbonato, fosfato, solfato, ecc.) con la molecola proteica, o ancora per una doppia decomposizione fra l'una e l'altra?

Probabilmente ha luogo l'un processo e l'altro. Difficilmente noi ci piegheremmo a credere che la proteina sposti il Cl dal cloruro sodico, per quanto sappiamo ch'essa ha proprietà analoghe a quelle di un acido debole. Pure, questo fenomeno pare si verifichi per opera delle cellule delle glandole gastriche nella formazione dell'H Cl, nel qual caso sarebbe superfluo ammettere un'azione dell'acido lattico del contenuto gastrico o dell'acido carbonico, giacchè basterebbe ammettere una doppia decomposizione tra il cloruro sodico e le proteine, con formazione di H Cl e di albuminato sodico, sotto l'influenza dell'attività specifica delle cellule gastriche. In ogni modo per gli altri sali una simile doppia decomposizione è possibilissima, e ciò è reso verisimile dal fatto che le proteine hanno simultaneamente proprietà acide e alcaline.

Esse infatti spostano l'acido carbonico dai carbonati, e in presenza di $Cu SO^4$ e di $Fe SO^4$ formano idrato di rame e idrato di ferro, (ved. PROTEINE), i quali sono solubili in un eccesso delle stesse proteine. Per una seconda doppia decomposizione, poi, l'elemento minerale verrebbe eliminato, dopo compiuta la sua funzione mineralizzatrice, per gli emuntori naturali (SANARELLI).

Un'altra funzione importante dei sali minerali, secondo il BUNGE, consisterebbe nella fissazione dell'acido solforico, che si forma nell'organismo per l'ossidarsi delle sostanze proteiche, e che dovrebbe, in assenza di altre basi minerali, fissarsi sopra quelle che formano parte integrante dei tessuti viventi.

Noi sappiamo infatti (ved. in seguito) che le sostanze proteiche

possono combinarsi anche con acidi minerali (sintonina), e che tale capacità aumenta con la successiva semplificazione della molecola proteica (proteosi, peptone, ecc.).

Tuttavia, se si comprende agevolmente il bisogno di sostanze minerali dell'organismo giovanissimo, che deve costruire i suoi tessuti, non si comprende perchè l'organismo adulto non possa fare a meno di esse, sapendosi che dalla giornaliera distruzione dei tessuti diventano libere quantità di materie saline, che dovrebbero essere sufficienti alla giornaliera ricostituzione dei medesimi, poichè i sali inorganici non hanno un proprio metabolismo. Quindi — dice il BUNGE — non sappiamo ancora qual'uso faccia l'**animale adulto** dei sali inorganici.

I sali minerali possono poi in parte sostituirsi nella loro funzione mineralizzatrice (SANARELLI). Secondo questo osservatore « tanto i cloruri come i fosfati esercitano nei processi nutritivi una funzione conservatrice rispetto agli altri sali minerali, vale a dire che se a tutti i sali minerali devesi attribuire, come pare verosimile, un'azione fisiologica attiva, allorquando questi facciano difetto, i cloruri ed i fosfati introdotti in eccesso ne assumerebbero le veci, senza che l'organismo assoggettato ad una alimentazione incompleta debba, durante la vita, lasciarsi impoverire dei sali sottratti ».

In tali condizioni, si può verificare un accumularsi di questi sali nell'organismo oltre quella proporzione che per esso può ritenersi normale e che sinora era considerata pure come costante, entrando, in luogo di quelli mancanti, nelle combinazioni organiche fisse.

Notisi però, che, molto probabilmente, la parte sostituibile dei sali è solo l'acido, non la base; in altre parole si può sostituire dei cloruri ai fosfati, o dei cloruri e fosfati ai carbonati, ai solfati, ecc., ma non si può sostituire dei sali di potassio a sali di sodio nei liquidi organici, e dei sali di sodio a sali di potassio nei tessuti: ciò che ha molta maggiore importanza e meriterebbe d'essere in modo speciale studiato.

In ogni modo il fatto della possibile reciproca sostituzione nell'azione fisiologica attiva dei sali minerali, è, come afferma anche il SANARELLI, certamente di molta importanza, e contribuirà forse a dar forma concreta alla ipotesi già accennata, che cioè i sali minerali, anzichè elementi di passaggio e quasi passivi, debbano essere considerati come fattori principali dell'assorbimento, dell'assimilazione e della disassimilazione delle materie organiche, tutti fenomeni che si compirebbero per opera di vere e proprie doppie decomposizioni.

§ 9. **La proporzione dei principî minerali negli organi e liquidi dell'organismo** è differente, come è dimostrato dalle seguenti tabelle:

Tabella sesta.

Sostanze minerali contenute nei vari organi, tessuti e liquidi dell'organismo umano e animale.

Organi, tessuti e liquidi	Quantità di sost. minerali ‰	Nomi degli Autori cui si devono le analisi
(I. *Organi e tessuti*)		
Smalto	964,10	v. Bibra.
Avorio dei denti	719,90	—
Ossa	654,40	Zalesky.
Cartilagine	34,00	Fromherz e Gugert.
Muscoli	15,40	(Media di più analisi).
Tessuto elastico	11,80	Schultze.
Fegato	11,03	Oidtmann.
Giallo d'uovo	9,65	Gobley.
Pancreas (donna vecchia)	9,50	Oidtmann.
Cornea	9,50	His.
Corpo vitreo	8,80	Lohmeyer.
Cristallino	8,20	Laptschinsky.
Globuli rossi del sangue	7,28	C. Schmidt.
Rene (bambino di 14 giorni)	7,00	Oidtmann.
Albume d'uovo	6,60	Lehmann.
Cervello	5,12	Geoghegan (media di 3 analisi).
Milza	4,94	Oidtmann.
Capelli biondi	4,74	Baudrimont.
Pancreas (bambino di 14 giorni)	3,70	Oidtmann.
Capelli neri	2,58	Baudrimont.
Reni (donna vecchia)	0,99	Oidtmann.
(II. *Liquidi*)		
Orina	17,80	J. Vogel.
Lacrime	13,20	Lerch.
Escrementi	12,00	Berzelius.
Liquido cefalo-rachideo (cane)	9,48	C. Schmidt.
Succo pancreatico (da fistole temp. di cane)	8,80	—
Succo intestinale (cane)	8,79	Thiry.
Bile	8,55	Gorup-Besanez.
Plasma sanguigno	8,51	C. Schmidt.
Chilo (cane)	8,39	—
Sangue totale	7,89	—
Linfa	7,75	Gubler e Quevenne.
Liq. amniotico	7,10	Scherer.
Sudore	7,10	Schottin.
Succo pancreatico (da fist. perm. di cane)	6,84	C. Schmidt.
Colostro	4,74	Clemm.
Latte	2,85	Tidy.
Succo gastrico	2,41	C. Schmidt.
Saliva mista	2,19	Frerichs.

Ma le differenti sostanze minerali sono variamente ripartite negli organi e liquidi dell'organismo, come risulta dalle seguenti tabelle.

Tabella settima.

Proporzioni relative delle sostanze minerali in alcuni organi e tessuti.

Sostanze chimiche in 100 parti di ceneri.	Nomi degli Autori delle analisi. Organi e tessuti.					
	Heintz	Staffel	Breed	Oidtmann	C. Schmidt	Oidtmann
	Ossa	Muscoli di vitello	Cervello	Fegato	Polmoni	Milza
Cloruro di sodio	—	10,59	4,74	—	13,0	—
Cloruro di potassio	—	—	—	—	—	—
Soda	—	2,35	10,69	14,51	19,5	44,33
Potassa	—	34,40	34,42	25,23	1,3	9,60
Calce	37,58	1,99	0,72	3,61	1,9	7,48
Magnesia	1,22	1,45	1,23	0,20	1,9	0,49
Ossido di ferro	—	—	—	2,74	3,2	7,28
Cloro	—	—	—	2,58	—	0,54
Fluoro	1,66	—	—	—	—	—
Acido fosforico libero	—	—	9,15	—	—	—
Acido fosforico combinato	53,31	48,13	39,02	50,18	48,5	27,10
Acido solforico	—	—	0,75	0,92	1,4	2,54
Acido carbonico	5,47	—	—	—	—	—
Acido silicico	—	0,81	0,42	0,27	—	0,17
Fosfato di ferro	—	—	1,23	—	—	—

Tabella ottava.

Proporzioni relative delle sostanze minerali contenute in alcuni liquidi.

Sostanze chimiche in 100 parti di ceneri.	Nomi degli Autori delle analisi Liquidi.							
	Verdeil	Weber	Weber	Dehnhardt	Porter	Wildenstein	Rose	Porter
	Sangue	Siero sanguigno	Coagulo sanguig.	Linfa	Orina	Latte	Bile	Escrementi
Cloruro di sodio	58,81	72,88	17,36	74,48	67,26	10,73	27,70	4,33
Cloruro di potassio	—	—	29,87	—	—	26,33	—	—
Soda	4,15	12,93	5,55	10,35	1,33	—	36,73	5.07
Potassa	11,97	2,95	22,36	3,25	13,64	21,44	4,80	6,10
Calce	1,76	2,28	2,58	0,97	1,15	18,78	1,43	26,40
Magnesia	1,12	0,27	0,53	0,26	1,34	0,87	0,53	10,54
Ossido di ferro	8,37	0,26	10,43	0,05	—	0,10	0,23	2,50
Acido fosforico	10,23	1,73	10,64	1,09	11,21	19,90	10,45	36,03
Acido solforico	1,67	2,10	0,09	—	—	2,64	6,39	—
Acido carbonico	1,19	4,40	2,17	8,20	—	—	11,26	—
Acido silicico	—	0,20	0,42	1,27	4,06	—	0,36	3,13

L'analisi di siero e di coagulo si riferisce al sangue di cavallo, quella di bile alla bile di bove.

Da queste tabelle si vede nettamente che l'acido fosforico e la calce costituiscono circa i $^3/_4$ della totalità delle sostanze minerali.

Finalmente la tabella seguente, di A.-W. VOLKMANN, dà le proporzioni per 100 dell'acqua, del C, dell'H, dell'N, dell'O e delle ceneri nei vari organi del corpo umano.

Tabella nona.

Organi	H^2O %	C %	H %	N %	O %	Ceneri %
Scheletro	50,00	18,06	2,74	2,30	4,78	22,11
Muscoli	77,00	11,73	1,71	3,04	5,47	1,05
Cuore	79,30	10,96	1,60	2,50	4,58	1,06
Cervello	77,90	12,62	1,93	1,37	4,41	1,41
Tessuto adiposo	15,00	64,78	10,10	0,45	9,67	—
Polmoni	79,14	10,70	1,46	2,52	5,01	1,16
Fegato	69,60	15,88	2,25	3,09	7,79	1,38
Milza	76,59	12,13	1,78	3,01	4,99	1,50
Canale digerente	77,98	11,70	1,54	2,87	4,88	1,07
Reni	83,45	8,73	1,29	1,93	3,80	0,80
Pelle	70,00	14,60	2,12	3,64	8,93	0,70
Pancreas	78,00	11,13	1,92	2,11	5,79	1,05
Sangue dei grandi vasi	79,00	11,53	1,34	2,99	4,28	0,85
Resto del corpo	76,35	12,13	1,74	3,01	5,73	1,03
Media	65,7	18,5	2,7	2,60	6,5	4,7

Ciascuna delle sostanze minerali ha un ufficio particolare ed entra più specialmente nella costituzione di questo o quell'organo, di questo o quel tessuto (BEAUNIS). Ma sarebbe superfluo passare qui in rassegna tutti i sali, di cui è stata accertata l'esistenza nell'organismo animale, da questo punto di vista. Le numerose tabelle contenute nella II PARTE di quest'opera possono, senz'altro, istruire sopra la varia distribuzione dei diversi sali nei diversi organi e tessuti.

Un importante argomento, non ancora sufficientemente studiato, non ostante le belle ricerche di HOFMEISTER e di alcuni suoi discepoli, è quello che riguarda i rapporti reciproci, che sono molteplici, esistenti fra i sali inorganici e le sostanze proteiche per sè stesse, o considerate come sostanze colloidi in generale.

Ma è più conveniente prendere in esame tale questione, dopo aver conosciuto le proprietà delle sostanze proteiche stesse; onde sono costretto a rimandare in proposito ai capitoli delle SOSTANZE PROTEICHE e delle SOSTANZE COLLOIDI. Allora avremo anche occasione di studiare nuovi fatti che serviranno a chiarirci i principî dianzi espressi così sommariamente sulla funzione mineralizzatrice dei sali inorganici e sulla loro importanza nei processi di assorbimento, di assimilazione, di disassimilazione e di escrezione.

§. 10. **Delle soluzioni saline.** — Qui vogliamo invece rammentare brevemente alcune proprietà fondamentali fisico-chimiche delle soluzioni saline; proprietà che utilizzeremo poi nel trattare della CELLULA VIVENTE e dei LIQUIDI dell'organismo animale, i quali in sostanza non sono che soluzioni acquose di miscugli salino-proteici.

Allargando secondo le moderne vedute il concetto comune di **soluzione**, daremo tal nome ad ogni miscuglio omogeneo nel quale non sia possibile separare, con mezzi meccanici o anche veder separati coi più forti ingrandimenti dei nostri microscopi, i costituenti.

Rientrano in tal modo nelle soluzioni, le mescolanze gassose le quali, come si sa, avvengono a proporzioni indefinite e spontaneamente ogni qualvolta due gas vengono a contatto, e ciò per il fenomeno della **diffusione**, secondo la legge di GRAHAM: che le velocità con cui due gas diffondono uno nell'altro sono inversamente proporzionali alla radice quadrata delle densità o che fa lo stesso dei **pesi molecolari**. La diffusione dei gas avviene in ogni senso anche contro la gravità come lo dimostra la classica esperienza di BERTHOLLET di capovolgere un recipiente pieno d'idrogeno sopra un altro contenente anidride carbonica; nonostante che l'idrogeno sia tanto più leggero, dopo qualche tempo si trova che ambedue i recipienti contengono la mescolanza omogenea dei due gas.

Soluzioni dei gas nei liquidi. — Le soluzioni dei gas nei liquidi non avvengono a proporzioni indefinite; ma è noto che il volume di un dato gas che può sciogliersi in un liquido è determinato, date che siano la **pressione** e la **temperatura**, e, variando queste, cresce **proporzionalmente** alla pressione e diminuisce col crescere della temperatura.

Il volume di un dato gas che si scioglie nell'unità di volume di un liquido alla pressione ordinaria di un'atmosfera e a una data temperatura si chiama il suo **coefficiente di solubilità** a quella temperatura.

Per i gas più comuni e più importanti sono stati determinati i coefficienti di solubilità in diversi liquidi e a differenti temperature.

Se un miscuglio gassoso è in contatto di un liquido, si scioglie tanto di ciascun gas come se esso occupasse tutto il volume occupato dal miscuglio (legge di HENRY): dimodochè se il gas occupa per esempio $^1/_5$ del miscuglio, come è il caso dell'ossigeno nell'aria, è come se il suo coefficiente di solubilità fosse ridotto a $^1/_5$ del suo valore.

Partendo da questo principio non è difficile calcolare a priori la composizione dell'aria sciolta nell'acqua, problema che si rilascia ad esercizio del lettore.

Soluzioni dei liquidi e dei solidi nei liquidi. — In questo caso il fenomeno è alquanto più complicato, perchè in primo luogo la soluzione non sempre avviene, almeno in modo sensibile o, per contrario, avviene in proporzioni indefinite come nel miscuglio di acqua e alcool; in generale però esiste un limite di solubilità che è funzione della temperatura; ognuno sa che se una soluzione al limite o come si dice una **soluzione satura** di un sale nell'acqua ottenuta a una data temperatura, si abbandona a una temperatura più bassa, una parte del sale si separa (**cristallizzazione**) e rimane disciolta soltanto la quantità che si compete a quella temperatura.

Di più, le proprietà della soluzione non sempre sono la somma di quelle dei costituenti; per esempio il volume di una soluzione non è quasi mai la somma dei volumi dei corpi che ne fanno parte, ma nel maggior numero dei casi è un poco minore: **si ha cioè una contrazione.** Nel miscuglio suaccennato di acqua ed alcool la contrazione è notevolissima: circa 3 % del volume dei costituenti, cioè tale che per esser prodotta meccanicamente richiederebbe, data la poca compressibilità dei liquidi, l'impiego di forze enormemente grandi.

Ma veniamo ad alcune proprietà delle soluzioni, che sono di capitale importanza, perchè si collegano intimamente fra di loro e con la composizione molecolare della sostanza disciolta. e perchè il loro studio ha aperto un nuovo campo di ricerche fruttuose e ha reso possibile di stabilire una **teoria delle soluzioni**. Tali proprietà sono principalmente: quelle della **pressione osmotica**. della **tensione di vapore**, del **punto di congelazione**, della **conducibilità elettrica** e dell'**attrito interno** o **viscosità**.

Per intendere che sia **pressione osmotica** partiremo da un'esperienza.

È noto che se ad una soluzione, per esempio di zucchero di canna, si sovrappone con precauzione dell'acqua, si formano dapprima due strati: ma le cose non restano così poichè lo zucchero **diffonde** nell'acqua, nonostante la

gravità, proprio come nel caso dell'anidride carbonica che diffonde nell'idrogeno, e dopo qualche tempo si ha una soluzione omogenea. Supponiamo ora che l'acqua e la soluzione di zucchero siano, non più a contatto, ma separate da una **membrana semipermeabile**, tale cioè che dia passaggio all'acqua, ma non allo zucchero, e facciamo l'esperienza in un tubo ad U che contenga questa membrana nel mezzo della sua curvatura, in C D (fig. 1).

Nella branca sinistra sia la soluzione di zucchero colla sua superficie libera in *a a*, e nella destra l'acqua colla superficie libera in *b b*, e siano dapprima le superfici libere allo stesso livello.

Lasciando a sè l'apparecchio si vede salire il livello *a a* in prova che l'acqua passa da destra verso sinistra; e se si ha cura di aggiungere continuamente acqua nella branca destra in modo da mantenere il livello in *b b*, si vedrà che nell'altra branca il livello, dopo esser salito a un certo punto massimo, si ferma.

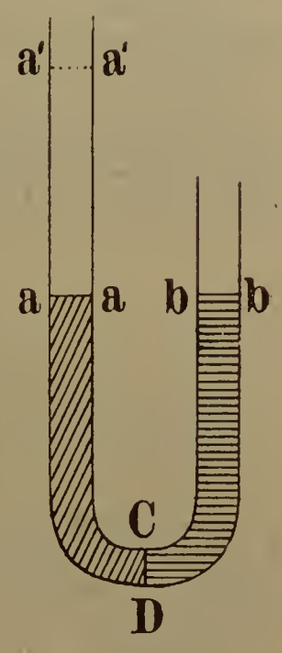


Fig. 1.

Poniamo nella figura questo livello in *a' a'*, benchè nella pratica sarà sempre molto più in alto. La differenza di livello *a a-a' a'* rappresenta una pressione idrostatica che tenderebbe a far passare l'acqua verso destra attraverso la membrana, e se questo non accade, si deve ritenere che esista una certa pressione agente in senso contrario e che le fa equilibrio. Questa pressione è appunto la **pressione osmotica**, e il fenomeno ora osservato si dice **osmosi**.

La pressione osmotica ha valori sempre molto grandi anche per soluzioni di mediocre concentrazione; per esempio una soluzione acquosa (17 %) di ammoniaca ha una pressione osmotica di 224 atmosfere e, se i vasi in cui tali soluzioni sono contenute non si rompono, ciò si deve attribuire alla **tensione superficiale** (ved. il capitolo: LA CELLULA) del liquido la quale si oppone alla tensione osmotica.

Senza seguire lo sviluppo progressivo di questo concetto della pressione osmotica per gli studi di numerosi scienziati, cerchiamo di renderci conto del fenomeno mediante la geniale ipotesi del VAN T'HOFF il quale volle vedere una stretta analogia tra lo stato dei corpi in **soluzione diluita** e lo stato gassoso. Torniamo alla nostra esperienza del tubo ad U. Se i due liquidi (acqua e soluzione di zucchero) non fossero miscibili, il sistema sarebbe in equilibrio quando le altezze delle colonne liquide che terminano in *a a* e *b b* fossero in ragione inversa delle rispettive densità, supposto le due tensioni superficiali in *a a* e *b b* si facciano equilibrio; ma nello spazio *a a* C D sono le molecole del corpo disciolto (lo zucchero), le quali muovendosi liberamente nel liquido producono coi loro urti nelle pareti una certa pressione (proprio come si trattasse di un gas) vinta dalla tensione superficiale del liquido in tutti i sensi fuori che in C D, dove per il contatto dell'acqua contenuta nella branca destra del tubo, non esiste tensione superficiale. Nel senso normale a C D questa pressione non è dunque equilibrata da alcuna forza, e quindi non sarà possibile l'equilibrio del sistema se non nasce una forza uguale e contraria, la quale è rappresentata appunto dalla pressione idrostatica della colonna liquida *a a a' a'*. Per questa ragione l'acqua passa verso sinistra e il livello sale fino in *a' a'*.

È chiaro che l'altezza della colonna liquida può darci una misura della pressione osmotica; e infatti PFEFFER ideò un apparato molto ingegnoso, col quale potè fare parecchie di queste determinazioni e stabilire alcune leggi generali.

Egli pose in un vaso poroso da pile una soluzione concentrata di ferrocianuro di potassio, e quindi introdusse il vaso poroso così riempito in un recipiente contenente una soluzione di solfato di rame. Dopo un poco di tempo le due soluzioni vennero a contatto nell'interno dei pori e reagirono fra di loro determinando così una pellicola di ferrocianuro ramico, che agisce

da membrana semipermeabile. Riempì quindi questa cellula artificiale di una soluzione di zucchero (saccarosio), o di un'altra sostanza, e chiuse il vaso in modo tale che non restasse aria nell'interno ma che il liquido si trovasse in immediato contatto col mercurio di un manometro; quindi introdusse l'apparato in un recipiente pieno d'acqua. In tali condizioni si stabilisce nell'interno del vaso una pressione più o meno grande che si legge per mezzo del manometro.

In questo modo PFEFFER potè dedurre la sua legge, che **a temperatura costante la pressione osmotica è proporzionale alla concentrazione della soluzione.**

Osserviamo subito di passaggio che questa legge si presenta come quella, di BOYLE e di MARIOTTE, per i gas, e riferiamo alcuni dati di PFEFFER, per soluzioni di saccarosio, che dimostrano il buono accordo delle misure sperimentali colla legge:

Concentrazione	Pressione	Rapporto
1 %	53,5	53,5
2 »	101,6	50,8
2,74 »	151,8	55,4
4 »	208,2	52,1
6 »	307,5	51,3

Ma vi è di più: **la pressione aumenta proporzionalmente alla temperatura**, e l'aumento di pressione per l'aumento di un grado è uguale per tutte le sostanze disciolte, e è uguale per di più al coefficiente di espansione ben noto dei gas, cioè: 0,00367. Data dunque la pressione osmotica Po di una certa soluzione a 0^0 si avrà per la pressione a t^0:

$$Pt = Po\ (1 + 0{,}00367\ t^0).$$

Diamo qui alcuni valori determinati da PFEFFER per una soluzione di zucchero, sempre all'1 % di concentrazione, che dimostrano come i valori sperimentali si avvicinino sufficientemente. vista la difficoltà delle esperienze, ai valori calcolati, prendendo per base il coefficiente di dilatazione comune a tutti i gas:

Temp.	Altezza osmotica trovata	Alt. osmot. calcol.	Rapporto $\frac{T}{O}$
14,2 = 287,2 [1]	51	51	5,63
32 = 305	54,4	54,2	5,61
6,8 = 279,8	50,5	50,5	5,54
22 = 295	54,8	53,2	5,38
15,5 = 288,5	52	52	5,54

Per mettere ancora più in chiaro l'analogia che andiamo svolgendo, vogliamo applicare alle soluzioni, e per esempio alla soluzione 1 % di saccarosio, la medesima formola:

$$p\,v = R\,T$$

che vale per i gas e che compendia le due leggi di BOYLE e di GAY-LUSSAC, e calcolare mediante i dati dell'esperienza il valore della costante R nell'un caso e nell'altro.

Cominciamo dal caso di un gas.

Prendiamo per v il valore del volume molecolare che, come sappiamo, per la legge di AVOGADRO, è uguale per tutti i gas, e in cifra tonda è 22380.

---

[1]) Temperature assolute, vale a dire 14,2 + 273, 32 + 273, ecc.

Indichiamo con p la pressione atmosferica, cioè 1033 grammi per cmq., e con T la temperatura di 0° centrigradi che in temperatura assoluta corrisponde a 273°; allora si avrà:

$$R = \frac{p\,v}{T} = \frac{1033 + 22380}{273} = 84700$$

Passiamo ora allo zucchero.

Il suo peso molecolare ($C^{12}\ H^{22}\ O^{11}$) è di 342; ora il volume del liquido in cui sono disciolti 342 grammi di zucchero, essendo la soluzione all'1 %, è c c. 34200.

Sappiamo da Pfeffer che la pressione osmotica di una tale soluzione di zucchero è 49,3 cm. di mercurio, cioè in grammi = 49,3 × 13,59 = 671, in cifra tonda. La temperatura rimane 273°;

perciò $$R = \frac{671 \times 34200}{273} = 84200,$$

cioè uguale, nei limiti degli errori dell'esperienza, a quella dei gas.

Da questo ragionamento il van t'Hoff pel primo dedusse, che la **pressione osmotica di una soluzione di zucchero ha lo stesso valore della pressione che eserciterebbe lo zucchero se occupasse allo stato gassoso il medesimo volume della soluzione.**

Resta ora a vedere se questa legge è generale per le soluzioni di tutte le sostanze e quindi se la espressione $p\,v = R\,T$ delle due leggi di Boyle e Gay-Lussac per le sostanze gassose è applicabile, in tesi generale, anche alle sostanze in soluzione.

Ora, dato che ciò si verifichi, deve verificarsi per le sostanze in soluzione anche la legge che Avogadro e Ampère dedussero, per le sostanze gassose o gassificabili, dalle due leggi di Boyle e Gay-Lussac.

Ciò è vero infatti per un grande numero di sostanze; ma vedremo più tardi che vi è d'altra parte un'intera serie di sostanze che si allontanano da queste leggi; ne vedremo allora il perchè e osserveremo che queste eccezioni alla regola, invece di abbatterla, servono invece a confermarla maggiormente.

Prendiamo per campione delle nostre deduzioni i valori che si trovano per mezzo delle soluzioni di zucchero, sostanza che si può avere facilmente molto pura e che non presenta altre proprietà, quand'è in soluzione, da alterare, come vedremo più tardi per altre sostanze, i valori dell'esperienza.

Per la legge di Avogadro, sappiamo che **volumi uguali di gas alla stessa temperatura e pressione contengono un ugual numero di molecole**, o ciò che vale lo stesso, **volumi uguali di gas nelle stesse condizioni di temperatura esercitano la stessa pressione.**

Ora sappiamo che un litro di idrogeno a 0° pesa gr. 0,0896, ed esercita sulle pareti del recipiente una pressione di un'atmosfera.

Un litro di zucchero gassificato alle stesse condizioni dell'idrogeno, posto che fosse possibile d'averlo, dovrebbe per la legge d'Avogadro pesare tante volte più dell'idrogeno quante volte la molecola dello zucchero pesa più di quella dell'idrogeno. La molecola dello zucchero pesa 342, quella dell'idrogeno 2, per cui il peso di 1 litro di zucchero gassificato dovrebbe pesare

$$\text{gr. } 0{,}0896 \times \frac{342}{2} = 15{,}3216.$$

Dunque, se è vera la legge, la soluzione di gr. 15.3216 di zucchero in un litro d'acqua, ossia una soluzione all'1,53 % circa, deve produrre la pressione osmotica di una atmosfera. Infatti, istituendo l'esperienza opportuna mediante una cellula di Pfeffer, si trova che una soluzione all'1,53 % di zucchero produce appunto una pressione osmotica di un'atmosfera.

Una dimostrazione assai più convincente, perchè più generale, che la legge di Avogadro si avvera anche per le soluzioni diluite in correlazione colla

pressione osmotica, deriva dalle esperienze celebri che il De Vries fece mediante cellule vegetali, e più che altro colle cellule della pagina superiore delle foglie della *Tradescantia discolor*. Queste cellule vegetali, come vedremo in seguito più ampiamente, funzionano come una cellula di Pfeffer o di Traube.

Il succo cellulare e il protoplasma sono rinchiusi in una membrana, detta tonoplasta, che è per eccellenza semipermeabile e che aderisce fortemente alla membrana della cellula, costituita da cellulosio puro e quindi permeabile all'acqua e alle soluzioni tutte, e che come è noto soltanto dalla parte esterna degli organi è rivestita dalla cuticola assai poco permeabile all'acqua. Il tonoplasta (cioè la membrana semipermeabile) è sottilissimo e di una grande elasticità e flessibilità, onde segue tutti i movimenti del protoplasma che racchiude. Se questo si contrae, anche il tonoplasta si contrae e quindi si distacca dalla parete di cellulosio che riveste esternamente la cellula; se invece il primo si dilata, il tonoplasta si comprime fortemente contro la parete di cellulosio.

Ora che cosa succederà se poniamo una o più di queste cellule in una soluzione?

Se la soluzione ha una pressione osmotica eguale a quella del succo cellulare, non vedremo alcuna modificazione avvenire nell'interno del protoplasma, perchè l'equilibrio osmotico si stabilisce subito, e non abbiamo nè entrata nè uscita di acqua attraverso il tonoplasta. Se la pressione della soluzione è minore di quella del succo cellulare, vi sarà entrata d'acqua nella cellula per ristabilire l'equilibrio osmotico, in modo che il succo cellulare aumenterà di volume e comprimerà ancora di più il tonoplasta contro la parete esterna di cellulosio; quindi anche in questo caso non avremo alcun fenomeno visibile, all'infuori del rigonfiamento dell'elemento cellulare, essendo già per sua natura, come abbiamo detto sopra, il tonoplasta fortemente aderente alla parete di cellulosio.

Se invece si pone una di queste cellule in una soluzione la cui pressione osmotica sia maggiore di quella del succo cellulare, allora si avrà passaggio di acqua dall'interno della cellula all'esterno, il tonoplasta si contrarrà e si staccherà dalla corteccia cellulare: — **plasmolisi** —. Questo fenomeno sarà meglio visibile in cellule il cui protoplasma venga in antecedenza colorato. Allora, non appena comincierà il passaggio del liquido, si vedrà subito coll'aiuto del microscopio, prima agli angoli della cellula poi tutto all'intorno del tonoplasta, accumularsi il liquido incolore, mentre il protoplasma cellulare, che rimane colorato, si addensa verso il centro.

Il De Vries distinse perciò le soluzioni con questi tre nomi:

isotoniche, chiamò quelle soluzioni la cui pressione osmotica è eguale a quella del succo cellulare di una data cellula,

ipotoniche, quelle la cui pressione osmotica è minore, e

ipertoniche, quelle la cui pressione osmotica è maggiore di quella del succo cellulare della stessa cellula.

In questo modo il De Vries facendo numerosi tentativi con soluzioni di diverse sostanze, e ciascuna di diversa concentrazione, riuscì a trovarne una per ciascuna sostanza che era isotonica col succo cellulare. Queste varie soluzioni erano poi, per conseguenza, isotoniche anche fra loro.

Egli trovò poi che queste soluzioni isotoniche contenevano tutte la stessa frazione del peso molecolare della sostanza disciolta nell'unità di volume della soluzione, e disse perciò **che le soluzioni isotoniche, cioè quelle le cui concentrazioni sono proporzionali ai pesi molecolari delle sostanze disciolte, contengono in egual volume un egual numero di molecole.**

È questa la legge di Avogadro applicata alle sostanze in soluzione diluita. Come si vedrà più chiaramente in seguito, **le sole sostanze organiche rientrano esattamente in questa legge.**

Altre esperienze del De Vries confermano che la legge di Boyle e Mariotte si può applicare anche a queste soluzioni diluite, vale a dire confermano la proporzionalità della concentrazione e della pressione osmotica.

Che la legge di Gay-Lussac possa anch'essa applicarsi, come abbiamo

già accennato, alla materia in soluzione viene provato anche dalle esperienze del SORET, il quale osservò che se in una soluzione c'è disuguaglianza di temperatura, la parte più calda è la meno densa, appunto come avviene per una massa gassosa, colla differenza per altro che nel primo caso, cioè per le soluzioni, occorre molto tempo di più, che non per i gas, affinchè la densità e temperatura si mettano in rapporto fra di loro. Anche le esperienze di DONDERS e di HAMBURGER comproverebbero in modo certo che la legge di GAY-LUSSAC è applicabile alle soluzioni. Essi sperimentarono con cellule animali (globuli rossi del sangue) e trovarono che soluzioni che erano fra loro isotoniche a 0° si mantenevano isotoniche anche ad altra temperatura (34°), fenomeno analogo a quello presentato dai differenti gas i quali avendo, ad una temperatura data, pressione uguale, seguitano a mantenerla uguale fra loro, se la temperatura si fa variare per tutti ugualmente. Ma su ciò torneremo in seguito (ved. LA CELLULA).

È da lunghissimo tempo conosciuto il fatto, che **sciogliendo una sostanza in un dato solvente si innalza la sua temperatura di ebullizione e si abbassa il suo punto di congelamento.** Ma furono il BABO ed il WUELLNER per i primi che stabilirono delle leggi in proposito. Secondo queste leggi, **la tensione di vapore diminuisce proporzionalmente alla quantità di sostanza disciolta, e per una stessa soluzione, la diminuzione, osservata ad una temperatura qualsiasi, è sempre la stessa frazione della tensione di vapore del solvente puro.**

Perciò, se indichiamo con f la tensione di vapore del solvente, con f_1 quella della soluzione e con p la percentuale di quest'ultima si avrà:

$$\frac{f - f_1}{f} = R\,p$$

o, ciò che è lo stesso:

$$\frac{f - f_1}{f \times p} = R$$

dove R è un coefficiente costante che rappresenta il cosidetto **coefficiente specifico** della soluzione, o in altri termini l'abbassamento relativo per una soluzione all'1 %.

Il primo però che pensasse di comparare gli abbassamenti delle tensioni di vapore riferendosi ai pesi molecolari fu l'OSTWALD nel 1884; ma i dati più importanti e gli studi più completi si debbono al RAOULT che fino dal 1878 aveva cominciato a fare ricerche sperimentali per dimostrare il parallelismo fra i fenomeni dell'abbassamento della tensione di vapore e di quello del punto di congelamento.

Egli constatò il fatto interessante, già preveduto dall'OSTWALD, che essendo m il peso molecolare della sostanza disciolta, sussiste sempre l'equazione:

$$\frac{f - f_1}{f} \times \frac{m}{p} = K.$$

dove K è costante per uno stesso solvente, e comparando poi questi valori di K per i diversi solventi, osservò che essi sono presso a poco tutti la centesima parte del peso molecolare M del solvente impiegato; in modo che il valore di $\frac{K}{M}$ è costante e uguale, entro limiti assai ristretti, a 0,01. Questo valore rappresenterebbe l'abbassamento prodotto da una soluzione in cui si trovino mescolate **una** molecola della sostanza e **cento** del solvente.

Egli enunciò questo fatto con la seguente legge:

Una molecola di una sostanza fissa, non salina, sciolta in cento molecole di un solvente volatile qualunque diminuisce la tensione di vapore di questo liquido di una frazione quasi costante e che si avvicina a 0,0105 entro limiti molto ristretti.

Diamo qui una tabella di valori trovati dal RAOULT, dalla quale risulta l'esattezza di questa regola:

Solvente	Peso molecolare del solvente M	K	$\frac{K}{M}$
Acqua	18	0,185	0,0102
Tricloruro di fosforo . .	137,5	1,49	0,0108
Solfuro di carbonio . . .	76	0,80	0,0105
Tetracloruro di carbonio .	154	1,62	0,0105
Cloroformio	119,5	1,30	0,0109
Amilene	70	0,74	0,0106
Benzene	78	0,83	0,0106
Joduro di metile . . .	142	1,49	0,0105
Bromuro di etile	109	1,18	0,0109
Etere etilico	74	0,71	0,0106
Acetone	58	0,59	0,0101
Alcool metilico	32	0,33	0,0103

Il Raoult poi cercò di esprimere questa legge con formule generali, e giunse alla seguente relazione:

$$\frac{f_{,}}{f} \times 100 = 100 - K\,N,$$

dove N indica il numero delle molecole della sostanza disciolta in 100 molecole di solvente, e K è un numero molto vicino all'unità e che anzi si può ritenerlo uguale se si fa $N < 15$; f e $f_{,}$ hanno gli stessi valori dianzi indicati.

Dalla relazione di sopra si ha facilmente:

$$\frac{f_{,}}{f} = \frac{100 - K\,N}{100} = 1 - \frac{K\,N}{100},$$

da cui

$$1 - \frac{f_{,}}{f} = \frac{K\,N}{100},$$

o ciò che è lo stesso

$$\frac{f - f_{,}}{f} = \frac{K\,N}{100}.$$

Se in questa equazione si fa K e N = all'unità abbiamo

$$\frac{f - f_{,}}{f} = \frac{1}{100}$$

che non è altro che l'espressione generale algebrica della legge di Raoult sopracennata.

L'Ostwald più tardi la generalizzò ancora e le assegnò la forma:

$$(1)\ \frac{f - f_{,}}{f} = \frac{n}{n - N}$$

indicando al solito con N il numero delle molecole del solvente e con n quello della sostanza in soluzione; in questo modo in luogo di riferirsi a 100 molecole di solvente ci si riferisce a un numero indefinito.

Ora chiamando P il peso del solvente e M il suo peso molecolare, p il peso della sostanza disciolta e m il suo peso molecolare, avremo

$$\frac{P}{M} = N, \text{ e } \frac{p}{m} = n;$$

e sostituendo nella (1) ad N e n i loro valori espressi da queste uguaglianze si avrà:

$$\frac{f - f_{,}}{f} = \frac{\frac{p}{m}}{\frac{p}{m} + \frac{P}{M}},$$

oppure

$$\frac{f-f_1}{f} = \frac{\frac{p}{m}}{\frac{p\,M + P\,m}{m\,M}} = \frac{\frac{p\,m\,M}{m}}{p\,M + P\,m},$$

ossia

$$\frac{f-f_1}{f} = \frac{p\,M}{p\,M + P\,m}.$$

Questa formula permette di calcolare il peso molecolare della sostanza disciolta se è nota la tensione di vapore del solvente puro, quella della soluzione, la concentrazione di questa e il peso molecolare del solvento. Ci sono peraltro, come vedremo fra breve, metodi più semplici basati su dati sperimentali.

L'altra proprietà molecolare è l'**abbassamento del punto di congelazione.**

Primi a trattare e studiare questo fenomeno furono il Blagden (1788), il Rueddorff (1861) e il De Coppet (1871); ma come abbiamo detto più innanzi le ricerche fondamentali si debbono al Raoult, il quale nel 1882 potè stabilire la seguente legge:

Sciogliendo in 100 parti di uno stesso solvente un peso corrispondente a quello molecolare o alla stessa frazione del peso molecolare delle diverse sostanze, le soluzioni risultanti congelano alla stessa temperatura.

Contemporaneamente il De Vries, studiando il fenomeno coll'aiuto delle sue cellule vegetali, arrivò alla stessa conclusione, ed enunciò la seguente legge che riunisce in una sola le due leggi del Raoult:

Due o più soluzioni isotoniche di diverse sostanze nello stesso solvente bollono e si congelano alla stessa temperatura.

Però il Raoult generalizzò la questione, e giunse alla conclusione che, **sciogliendo in 100 pesi molecolari di un solvente 1 peso molecolare di una sostanza, queste soluzioni presentano tutte un abbassamento eguale, cioè fanno abbassare di 0°,62 il punto di congelamento del solvente, qualunque esso sia, qualunque sia la sostanza in esso disciolta.**

Possiamo ottenere facilmente i valori che si riferiscono a questa concentrazione, dividendo l'abbassamento molecolare ordinario per il peso molecolare del solvente.

Ecco alcuni dati del Raoult in conferma della legge:

Solvente	Peso molecolare	Abbassamento molecolare	Abbassamento per 1 molecola in 100 molecole
Acido formico	46	28	0,608
Acido acetico	60	39	0,650
Benzene	78	49	0,628
Nitrobenzene	123	70,5	0,600
Bibromuro di etilene . .	188	117	0,623

Per altro questa legge generale, come è stato trovato più tardi, non è sempre confermata dall'esperienza.

Come si vede bene, le proprietà considerate sono proprietà molecolari, sono indipendenti dalla natura della sostanza disciolta, o almeno dentro certi limiti, anche da quella del solvente; non dipenderebbero, al limite, che dal numero relativo delle molecole componenti la soluzione.

Basandosi sopra le leggi ora esposte, si ha un mezzo per determinare il peso molecolare di una sostanza; infatti basta fare una soluzione diluita di essa e cercare a qual punto di concentrazione essa congela alla stessa temperatura della soluzione di un'altra sostanza perfettamente nota. Allora le due soluzioni sono isotoniche; e poichè **a volumi uguali le concentrazioni delle due soluzioni sono proporzionali ai pesi molecolari delle sostanze disciolte.**

con una semplice proporzione si trova il peso molecolare della sostanza incognita. Ma come si vede il metodo è lungo, poichè si richieggono moltissime esperienze per trovare la voluta concentrazione.

Ora si è osservato, com'è del resto evidente, **che l'abbassamento del punto di congelazione, che una sostanza produce in un dato solvente, è proporzionale, entro certi limiti, alla concentrazione della soluzione.**

Chiamando Δ questo abbassamento, cioè la differenza fra il punto di congelazione del solvente puro e di quello della soluzione, ed indicando con p la concentrazione di questa si ha:

$$\frac{\Delta}{p} = C \text{ (costante).}$$

Tale costante dicesi **coefficiente di abbassamento**, e non solo è diversa per ogni singola sostanza ma varia anche col variare del solvente.

Peraltro, se nello stesso solvente si sciolgono quantità equimolecolari delle diverse sostanze (proporzionali cioè ai loro pesi molecolari) l'abbassamento T^0 del punto di congelazione è **uguale** per tutte le soluzioni fatte con quel dato solvente e perciò il prodotto del coefficiente di abbassamento di ogni sostanza per il peso molecolare deve darci questa temperatura T^0; si avrà cioè:

$$\frac{\Delta}{p} \times m = T^0.$$

Il numero di gradi T^0 di cui soluzioni isotoniche fanno abbassare il grado di solidificazione del solvente è, come abbiamo detto or ora, indipendente dalle varie sostanze ed eguale per ogni singolo solvente.

La concentrazione p si ottiene facilmente con una semplice proporzione, poichè se una quantità a di sostanza è stata sciolta nella quantità A di solvente noi avremo evidentemente:

$$a : A :: p : 100$$

da cui si ottiene

$$p = \frac{100 \cdot a}{A},$$

onde volendo conoscere p, basta pesare esattamente la sostanza disciolta e il solvente e sostituire i pesi trovati in questa formola.

Il valore di T^0 si determina senz'altro dalla relazione:

$$\frac{\Delta}{p} \times m = T^0,$$

facendo uso di sostanze di cui si conosce con esattezza il peso molecolare m. Naturalmente per essere precisi, quando si voglia fare questa determinazione, si fanno numerose esperienze con sostanze diverse di cui si conosce con somma precisione Δ e p. In questo modo si è calcolato T^0 per diversi solventi, e si ottennero com'è naturale valori costanti per ogni solvente:

	T^0
Acqua.	1890
Acido acetico	3880
Benzolo	4900
Fenolo	7500

Il valore di T si chiama **coefficiente di abbassamento molecolare**; quando questo sia noto con precisione, se si vuol calcolare il peso molecolare m di una sostanza di cui sia noto Δ e p (bene inteso rispetto al solvente di cui si conosce T^0), basta risolvere l'equazione $\frac{\Delta}{p} \times m = T^0$ rispetto ad m.

giungendo alla relazione:

$$m = \frac{T^{o} \cdot p}{\Delta}$$

che ci dà il valore di m.

Abbiamo già detto come si trovi semplicemente la concentrazione p di una soluzione; dobbiamo ora vedere come si può ottenere Δ.

L'apparecchio che serve a questo scopo ed anche alla determinazione dei pesi molecolari delle varie sostanze è rappresentato dalla fig. 2, e consta di un vaso esterno *a* ripieno di un miscuglio frigorifero, o semplicemente di ghiaccio a seconda dei casi.

In questo recipiente sta sospeso per mezzo di un coperchio di legno il tubo *b* di 3 o 4 cm. di diametro e in questo poi un altro tubo più lungo *c*, avente la tubulatura laterale *d*, e nel quale si pone il solvente o la soluzione, e il termometro che deve essere diviso almeno in decimi di grado; ma è preferibile di adoperare un termometro a centesimi di grado come ora si trovano appositamente in commercio costruiti per questi scopi.

Per eseguire la determinazione, si pone il solvente puro nel tubo *c*, e per mezzo di un filo di platino *e* si agita il liquido finchè non si congeli, e si nota con cura la temperatura precisa in cui avviene questo fenomeno. Poi si estrae il tubo, si liquefa il solvente, si introduce per la tubulatura *d* la sostanza da

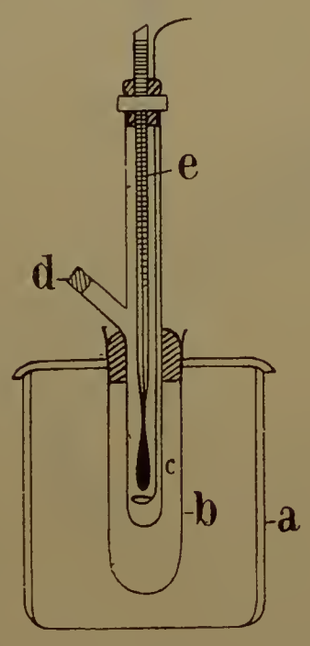


Fig. 2.

sciogliere accuratamente pesata, e si ricomincia l'operazione notando di nuovo accuratamente la temperatura di congelamento della soluzione. La differenza fra le due temperature ci dà Δ. Siccome queste esperienze sono tanto più esatte quanto più diluite sono le soluzioni su cui si opera, Δ in generale sarà uguale a pochi decimi di grado ed è perciò che è necessario di servirsi di un termometro che segni almeno i centesimi del grado.

Tutto ciò che abbiamo detto riguardo al punto di congelazione può ripetersi per rispetto al punto di ebullizione, senonchè in questo caso Δ esprime di quanti gradi la soluzione di concentrazione p ha il suo punto di ebullizione più elevato di quello del solvente puro.

Siccome poi è necessario che nel far bollire la soluzione il vapore del solvente non trascini con sè traccie del composto in soluzione, così si preferiscono solventi a punto di ebullizione piuttosto basso.

La formola colla quale si calcola il peso molecolare di una sostanza con questo metodo è la stessa di quella accennata per il metodo precedente, e cioè:

$$m = \frac{T^{o} \times p}{\Delta}.$$

L'apparecchio che si usa per queste determinazioni, come pure l'altro già descritto per il metodo precedente, e i termometri che vengono adoperati sono stati ideati da Beckmann.

L'apparato ebulliscopico consta di un matraccino a tre colli che si riempie di perline di vetro o meglio di granati per avere una regolare ebullizione; a questo scopo è anche saldato nel fondo di questo mastraccino un pezzetto di grosso filo di platino.

Nel collo mediano di questo matraccino si adatta il refrigerante; e degli altri due colli laterali, il più corto serve per tenere il termometro, il cui bulbo deve pescare completamente nel liquido, e quello più lungo è chiuso

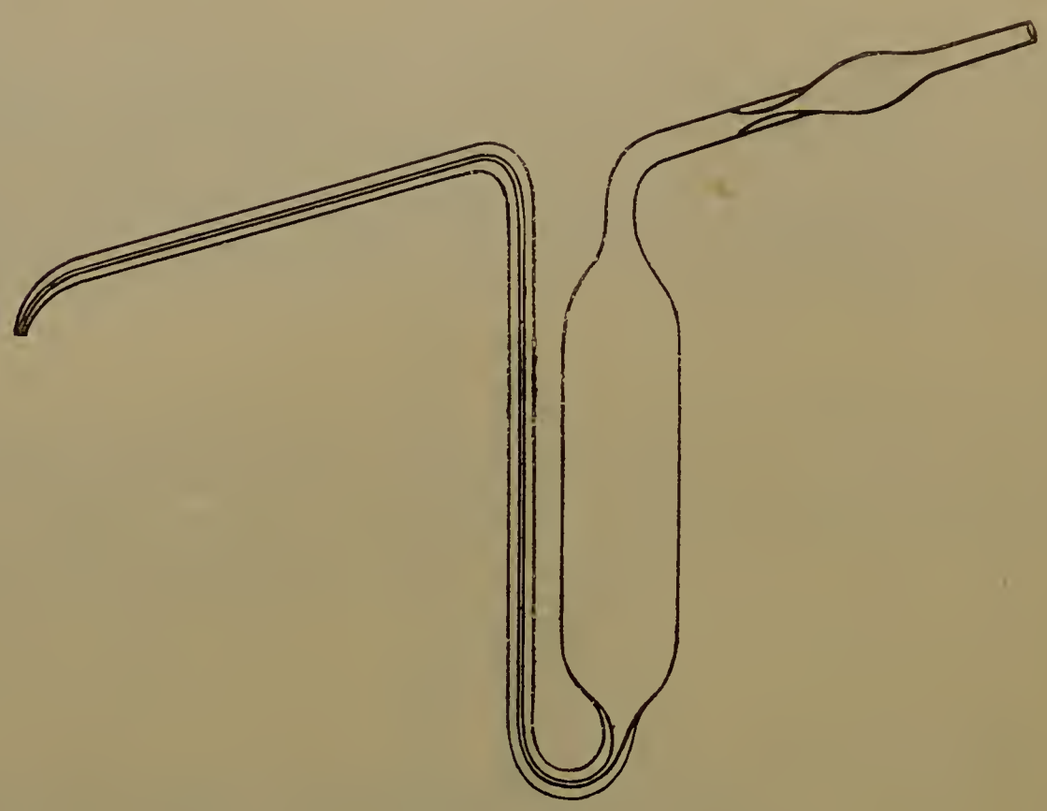


Fig. 3.

con un buon tappo di sughero, e serve per introdurre la sostanza da cimentare.

Per avere il peso del solvente, il miglior modo è di pesarne un eccesso in un altro matraccino, versarne quel tanto che occorre nell'apparecchio, e quindi ripesare il rimanente. La differenza ci dà il peso esatto del solvente che si adopera. In seguito si mette a posto il termometro e il refrigerante, si riveste il matraccino con una calza di amianto e si fa bollire il solvente. La lettura del termometro si fa soltanto quando la temperatura è costante, e questo non avviene quasi mai prima di 40 minuti. Determinata la temperatura di ebollizione del solvente si introduce nell'apparecchio per mezzo del collo più lungo la sostanza già pesata con cura, e foggiata mediante una pressa in acciaio in forma di piccole pasticche o di piccoli cannellini. Se la sostanza è liquida si fa uso di una pipetta speciale rappresentata dalla figura 3: e il peso della sostanza si determina nello stesso modo che abbiamo indicato per il solvente.

Introdotta la sostanza, si chiude di nuovo rapidamente il collo dell'apparecchio e si osserva, dopo cinque minuti circa, la temperatura segnata dal termometro. Questa sarà di qualche decimo di grado più alta di quella segnata dal solvente puro. Si può allora introdurre una seconda e poi una

terza quantità pesata di sostanza, e fare così 2 o 3 determinazioni in poco tempo. Si introducono i valori trovati nella formula e si ha così il peso molecolare della sostanza esaminata.

Terminata l'esperienza è necessario di lavare accuratamente l'apparecchio, e in special modo i granati o le perline di vetro che, data la loro grande superficie, possono trattenere una certa quantità di sostanza e alterare poi le determinazioni successive.

Siccome si supponeva che per queste determinazioni fossero necessarie le più grandi precauzioni, così il Beckmann descrisse un apparato compli-

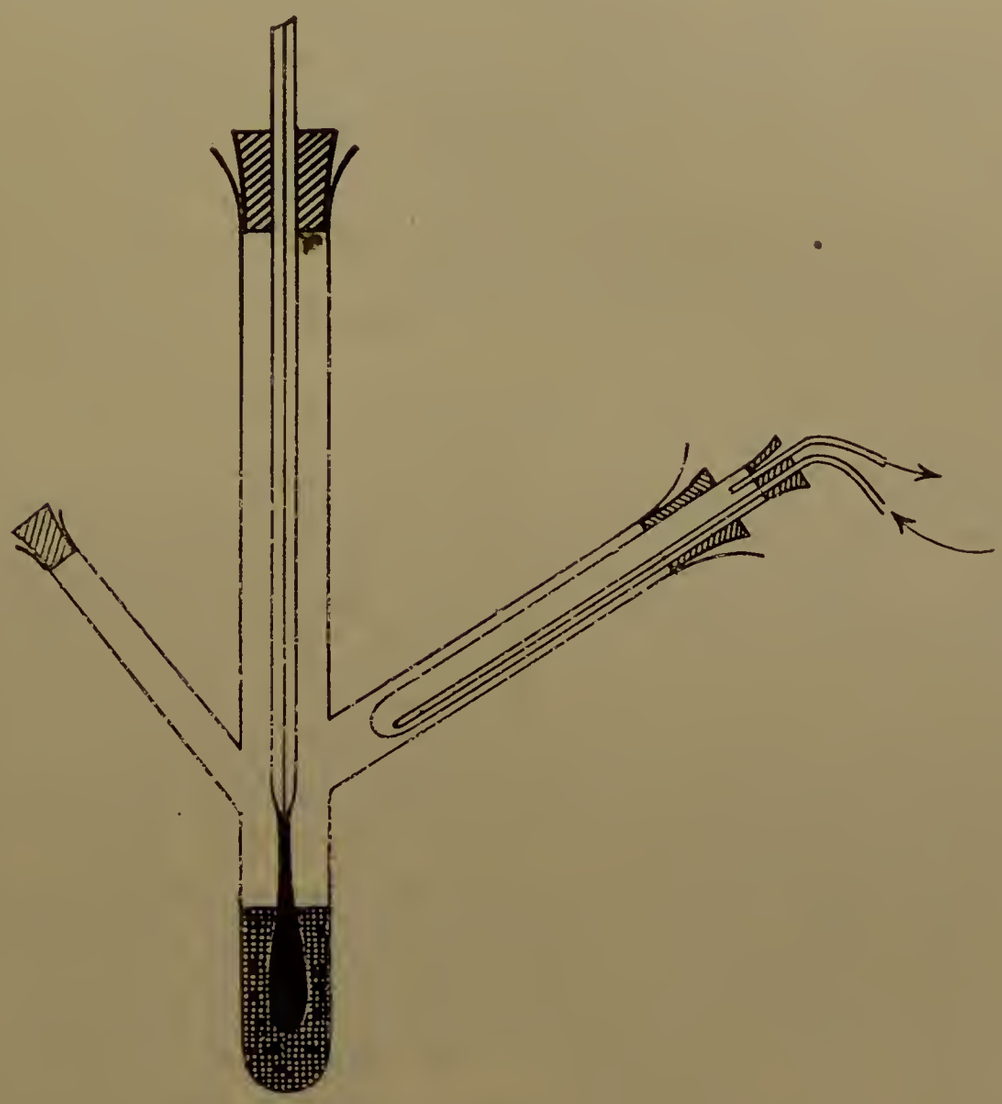


Fig. 4.

catissimo che ovviava a tutti gli inconvenienti; ma in una lunga memoria pubblicata dallo stesso Autore lo scorso anno (1896), concludeva che erano del tutto inutili certe precauzioni, e dimostrava coll'esperienza che si possono fare esatte misurazioni con un semplice apparecchino che descrive e che noi riportiamo nella figura 4.

L'interessante si è che, per avere un valore costante del punto di ebullizione, il Beckmann ha trovato che è necessario di adoperare dei piccoli tetraedri di platino, del peso circa di gr. 0,25 ciascuno, in luogo dei granati o delle perline di vetro, ed il valore minimo e costante del punto dell'ebullizione si raggiunge solo impiegando circa gr. 10 di platino.

Abbiamo accennato più innanzi come mediante l'ipotesi del van t'Hoff si possa applicare la formula generale dei gas

$$P V = R T$$

anche alle soluzioni diluite; ma nello stesso tempo dicemmo che non tutte le sostanze in soluzione diluita si comportano in modo da soddisfare con esattezza la formola suaccennata

Difatti il VAN T'HOFF già nella sua prima memoria pubblicata nel 1885 fece notare che **per le soluzioni si ha in generale per R un valore differente da quello dei gas**, quantunque in alcuni casi gli si avvicini di molto o sia eguale del tutto.

Egli propose perciò come equazione generale per le **soluzioni** l'espressione

$$P\,V = i\,R\,T,$$

dove R è la nota costante dei gas, ed i un coefficiente espresso da un numero piccolo e che ordinariamente differisce di poco dall'unità.

Se prendiamo a considerare una soluzione avente l'unità di concentrazione, se cioè ci riferiamo ad un solo peso molecolare, avremo

$$P\,V = i\,R\,T;$$

se prendiamo invece in considerazione n pesi molecolari, avremo

$$P\,V = n\,i\,R\,T.$$

Se in queste espressioni i diventa $= 1$ si ottengono le espressioni che si riferiscono ai gas.

È certo però che ponendo l'equazione generale sotto la forma

$$P\,V = i\,R\,T$$

la teoria generale veniva ad essere in certo qual modo scossa, non avendo il VAN T'HOFF dato che i valori numerici sperimentali di i per alcune sostanze, senza preoccuparsi per il momento di darne un significato fisico.

Furono l'ARRHENIUS (fisico svedese) e il PLANCK (fisico tedesco) che, quasi contemporaneamente e partendo da concetti indipendenti l'uno dall'altro, completarono la teoria generale del VAN T'HOFF riportando le eccezioni alle stesse cause che determinano le eccezioni analoghe nei corpi gassosi.

L'ARRHENIUS, dopo avere accennato che con la sua teoria il VAN T'HOFF ha dimostrato in modo indubitato la estensione della legge di AVOGADRO alle soluzioni, aggiunge che esiste però una certa quantità di sostanze che ofirono delle eccezioni più o meno forti, e che precisamente hanno in soluzione una pressione osmotica più forte di quella che indicherebbe la teoria.

E l'ARRHENIUS continua:

Quando un gas mostra una deviazione di tal genere dalla legge d'AVOGADRO, tutti i chimici hanno ammesso e dimostrato che esso sia dissociato.

Ad esempio, il pentaclorurо di fosforo nel gassificarsi si dissocia in tricloruro e cloro, e quindi il suo volume gassoso è doppio di quello che la teoria d'AVOGADRO farebbe prevedere. Così per il cloruro d'ammonio, e per il cloro, bromo e iodio, i quali ultimi ad alta temperatura mostrano di essere dissociati negli atomi corrispondenti.

Lo stesso concetto si può applicare naturalmente, dice l'ARRHENIUS, anche alle soluzioni per spiegare le eccezioni alla teoria generale del VAN T'HOFF, e data una tale spiegazione il coefficiente i viene subito ad avere un significato fisico assai preciso.

Esso sarebbe la misura della quantità di molecole che si sono dissociate nella soluzione.

Supponiamo, per es., di avere una soluzione contenente N molecole della sostanza disciolta di cui m non siano dissociate e n lo siano, e supponiamo che ciascuna di queste n molecole dissociate ne dia K più semplici; in tal caso avremo:

$$i = \frac{m + K\,n}{N} = \frac{m + K\,n}{m + n}.$$

Se $K = 1$, ossia se tutte le molecole restano inalterate avremo, naturalmente, $i = 1$; se poi tutte le molecole saranno dissociate avremo $i = K$, ossia i sarà uguale a 2, 3, 4, ecc., secondo che la molecola della sostanza disciolta avrà

la proprietà di scindersi in 2, 3, 4 molecole più semplici, siano esse gruppi atomici, oppure atomi che funzionino da molecole. Supponiamo che 50 delle 100 molecole che si trovano in una data soluzione siano dissociate in 2, avremo $i = 1{,}50$, poichè, sostituendo questi valori numerici nella formola generale, abbiamo:

$$i = \frac{50 + 2 \times 50}{100} = \frac{50 + 100}{100} = 1{,}50.$$

Se invece delle 100 molecole 80 sono scisse in due, avremo:

$$i = \frac{20 + 2 \times 80}{100} = \frac{20 + 160}{100} = 1{,}80.$$

Dunque i è una misura della disgregazione che la molecola della sostanza disciolta ha subìto per effetto della soluzione.

È interessante di notare che, esperimentando in soluzione alcoolica quelle sostanze (per es. i sali) che in soluzione acquosa si comportano in modo anormale, offrono invece un comportamento perfettamente normale.

Vediamo ora a che cosa si debba attribuire questo modo di comportarsi in ispecie delle sostanze inorganiche (acidi, basi, sali) quando si trovino in soluzione acquosa.

Le prime supposizioni che si fecero, furono che la disgregazione avvenisse nel solito modo per mezzo dell'acqua. Trattandosi infatti di sali era già provato per mezzo della termochimica che l'acqua li può decomporre dando acido e base, e quanto maggiore è la quantità d'acqua tanto maggiore è la dissociazione, tantochè se l'acido o la base sono volatili si possono eliminare evaporando il liquido e avere come residuo o l'acido o la base fissa. Ma questa **dissociazione**, che si disse **idrolitica, non avviene, come lo dimostra la termochimica, che nei sali, formati da acidi e basi deboli**, e che sono caratterizzati dal fatto che è assai piccolo il loro calore di neutralizzazione e di formazione, e di più dai fenomeni termici che accompagnano la diluizione delle loro soluzioni concentrate.

A questa categoria appartengono i **borati**, i **cianuri**, i **solfuri**, ecc., specialmente delle basi più deboli. Al contrario, i sali formati da acidi e basi forti sono caratterizzati dal grande calore di neutralizzazione (eguale sempre presso a poco a tante volte 137 calorie quante molecole d'acqua si formano nella reazione), come pure dal fatto che l'aggiunta d'acqua non determina nelle loro soluzioni più concentrate nessun cambiamento termico. A questa categoria appartengono i **cloruri, solfati, nitrati**, ecc., specialmente degli alcali fissi, e che possono considerarsi come i sali più stabili.

Ora sono appunto questi ultimi sali che in soluzione acquosa formano le eccezioni più notevoli alla teoria generale del VAN T'HOFF; in altri termini **sono appunto i sali più resistenti alla dissociazione idrolitica che hanno il comportamento più anormale.**

Di più come si potrebbe spiegare mediante la dissociazione idrolitica questo comportamento anormale negli acidi liberi e nelle basi libere? Per l'acido cloridrico, per es., che si allontana forse più di ogni altro composto dalla legge generale, dovremmo supporre che in soluzione acquosa esista come acido ipocloroso e idrogeno?

Non resta adunque che l'**ipotesi della dissociazione elettrolitica** ideata dall'ARRHENIUS.

Questa teoria che è l'appoggio più valido di quella più generale del VAN T'HOFF sull'analogia tra la materia allo stato gassoso e quella allo stato di soluzione diluita, è basata oggi sopra un numero grandissimo di ricerche sperimentali, in special modo termochimiche ed elettrochimiche.

Per comprendere facilmente questa teoria è necessario premettere alcune nozioni di indole generale.

È noto che già il VOLTA aveva diviso i corpi in tre grandi classi a seconda del loro modo di comportarsi rispetto alla corrente elettrica di una pila.

Chiamò corpi **non conduttori**, o **coibenti**, quelli che non permettono il passaggio della corrente, quali ad es., le resine, lo zolfo, il legno, i gas della nostra atmosfera quando siano perfettamente secchi, ecc. Corpi **buoni conduttori** o **conduttori di prima classe**, chiamò quelli che si lasciano facilmente attraversare dalla corrente, e fra questi abbiamo tutti i metalli e le loro leghe, il carbone (in specie quello di storta) e qualche altro corpo.

Conduttori di seconda classe infine chiamò quei corpi che permettono il passaggio della corrente soltanto in certe date condizioni, e fra questi egli notò, per es., la carta e i panni umidi, l'acqua acidulata e qualche altro.

In seguito si osservò che a questa seconda classe di conduttori appartengono soltanto quei corpi che possono subire una trasformazione chimica al passaggio della corrente, e sono in special modo composti inorganici, quali i sali sia in soluzione che allo stato fuso, e di più le soluzioni acquose degli acidi e delle basi.

In questi conduttori di seconda classe, che si dissero **elettroliti**, il movimento dell'elettricità si produce in modo che l'idrogeno degli acidi e i metalli (o i radicali metallici) che lo sostituiscono nella formazione dei sali come pure i metalli delle basi si spostano dall'elettrodo positivo verso quello negativo; mentre i radicali acidi, o gli elementi che funzionano da radicale acido, quali il cloro, il bromo, l'iodio e il fluoro, e gli ossidrili dei composti basici si spostano in senso inverso.

Queste parti, alcune delle quali si spostano dal polo positivo e vanno al polo negativo, altre che percorrono la strada inversa, furono chiamate **ioni** e si dissero:

ioni elettropositivi (o **anioni**) quelli che vanno verso il polo negativo e

ioni elettronegativi (o **cationi**) quelli che si spostano verso il polo positivo della pila.

Daremo qui alcuni esempi pratici:

		Ione elettro +	Ione elettro —
Acido cloridrico	HCl	H	Cl
» solforico [1])	H^2SO^4	H	SO^4H
» nitrico	HNO^3	H	NO^3
Cloruro ramico	$CuCl^2$	Cu	Cl^2
» rameoso	$CuCl$	Cu	Cl
Solfato sodico potassico	$KNaSO^4$	K,Na	SO^4
» alluminico potassico . . .	$(SO^4)^2AlK$	Al,K	$(SO^4)^2$
Cloruro d'ammonio	NH^4Cl	NH^4	Cl
» di potassio	KCl	K	Cl
Idrato di potassio	KOH	K	OH
Solfidrato di sodio	$NaSH$	Na	SH
Idrato d'ammonio	NH^4OH	NH^4	OH

Lasciamo ora al lettore, per non fare troppo lunga questa serie, la cura di risolvere la questione sopra altri composti che potrà trovare in qualunque trattato di chimica generale.

Queste differenti parti, questi ioni, sono dunque cariche di una data quantità di elettricità, e nei luoghi in cui l'elettrolite tocca gli elettrodi della pila questi ioni vengono messi in libertà, perchè la quantità di elettricità di cui è caricato l'ione viene neutralizzata da una quantità uguale di elettricità di nome contrario proveniente dall'elettrodo, e quindi dalla pila. Si è allora che l'ione acquista le proprietà o di metallo o di radicale acido, ecc., e a seconda dei casi avvengono delle reazioni chimiche speciali per la formazione del composto più stabile compatibilmente alle condizioni dell'operazione.

---

[1]) Questo modo di vedere è suggerito dalla formazione dell'acido persolforico al polo positivo della pila, oltrechè dal calore di neutralizzazione dell'acido solforico.

Ad esempio, abbiamo detto che in una soluzione di acido solforico attraversata dalla corrente, l'ione elettropositivo H si sposta verso il polo negativo e l'ione elettronegativo SO^4H si sposta verso quello positivo della pila.

Ma appena che l'ione H tocca l'elettrodo negativo viene ad essere neutralizzata la sua carica elettrica, l'ione acquista la proprietà dell'idrogeno, due atomi si riuniscono in una molecola, e quindi si svolge dall'elettrodo sotto forma di bollicine gassose.

D'altra parte l'ione SO^4H venendo a contatto coll'elettrodo positivo perde la sua carica elettrica e acquista le proprietà chimiche di un radicale acido. Ma fin dai primi elementi di chimica sappiamo che gruppi atomici non saturi (i cosidetti radicali) non possono esistere tal quali allo stato libero, quindi due dei gruppi SO^4H decompongono una molecola d'acqua a seconda dell'equazione:

$$2\,SO^4H + H^2O = 2\,SO^4H^2 + O,$$

e l'ossigeno non come atomo ma allo stato molecolare (O^2) si svolge anche esso in forma di bollicine gassose.

Prendiamo ancora l'esempio del cloruro di potassio.

Nella soluzione di questo sale, attraversata dalla corrente, l'ione elettropositivo K si sposta verso il polo negativo e l'ione elettronegativo Cl si muove verso il polo positivo. Giunto l'ione K a contatto coll'elettrodo negativo, viene ad essere neutralizzata la sua carica elettrica e allora l'ione acquista le proprietà del metallo potassio. Ma questo in presenza dell'acqua la decompone a seconda dell'equazione:

$$K + H^2O = KOH + H$$

e l'idrogeno sempre allo stato molecolare (H^2) si svolge. Dal canto suo l'ione Cl, perduta la sua carica elettrica negativa quando viene in contatto coll'elettrodo positivo, si svolge anch'esso sotto forma molecolare (Cl^2) in bollicine gassose.

Altre reazioni secondarie si possono avere quando si operi sopra soluzioni di diverse sostanze, ma alcune di queste possono anche evitarsi mettendosi in condizioni speciali di esperimento. Così, ad es., sappiamo che oggi una grande parte del sodio e del potassio metallici si ottengono decomponendo elettroliticamente il cloruro di sodio e il cloruro di potassio. In questo caso avviene bensì il trasporto dell'energia elettrica per mezzo dei due ioni

$$\overset{+}{Na} \text{ e } \overset{-}{Cl}\,;\ \overset{+}{K} \text{ e } \overset{-}{Cl},$$

ma le condizioni dell'operazione sono tali da impedire che i due ioni Na e K, perduta la loro carica elettrica e acquistate le proprietà dei metalli, si trovino in contatto coll'acqua o coll'ossigeno atmosferico in modo da reagire con essi e trasformarsi negli idrati o negli ossidi corrispondenti.

Abbiamo accennato più volte che non tutte le sostanze composte hanno la facoltà di condurre l'elettricità elettroliticamente, vale a dire per spostamento di particelle ponderali. Questa facoltà è posseduta sopratutto dalle soluzioni acquose dei sali, degli acidi e delle basi, in una parola di tutte quelle sostanze che possono effettuare istantaneamente lo scambio delle loro parti componenti. Se pensiamo che per avere la conducibilità elettrolitica è necessario che delle particelle si muovano in un senso cariche di elettricità positiva e delle altre in senso opposto cariche di elettricità negativa, si osserva subito che la facoltà conduttrice dipende dalla proprietà che ha o no la sostanza di formare questi piccoli veicoli dell'elettricità.

Ma nessuna sostanza presa allo stato molecolare è capace naturalmente di caricarsi così di elettricità positiva e negativa ad un tempo; questa proprietà appartiene esclusivamente agli **ioni**, vale a dire ai prodotti di scissione delle molecole di quei dati composti.

È questa la ragione che per l'addietro faceva attribuire alla corrente elettrica questa proprietà di produrre la scissione delle molecole in ioni al

suo ingresso negli elettroliti, e di utilizzarli poi per il suo trasporto a distanza.

In seguito si sono trovati però molti fatti in contraddizione con questa supposizione. Per es., per produrre questa scissione sarebbe necessario un certo lavoro, ma l'esperienza ci insegna che negli elettroliti l'elettricità si muove altrettanto liberamente quanto nei conduttori metallici e non può perciò effettuare un tale lavoro.

Inoltre è stato osservato che tutte le sostanze che in soluzione si staccano, sia più, sia meno, dalla legge generale del VAN T'HOFF, conducono l'elettricità, in una parola sono elettroliti; è necessario dunque ammettere una correlazione fra queste varie proprietà.

Fu appunto l'ARRHENIUS che, prendendo per base queste osservazioni, e dopo aver supposto che le eccezioni alla legge generale del VAN T'HOFF dovessero essere prodotte dalla stessa causa che produce le varie eccezioni alla legge generale dei gas, enunciò nel 1887 la sua **teoria sulla dissociazione elettrolitica**, secondo la quale **la facoltà di condurre elettroliticamente con maggiore o minore facilità la corrente elettrica dipende esclusivamente dalla proprietà di certe date sostanze di avere in soluzione un numero maggiore o minore di molecole scisse nei due ioni.**

A questa teoria si è obiettato, per es., che il solfato di potassio, il cloruro di potassio, l'acido solforico e cloridrico, ecc., sono composti i cui componenti hanno la più grande affinità fra di loro, mentre, stando alla teoria, dovrebbero in soluzione essere scissi l'uno dall'altro per la formazione dei due ioni.

Ma facendo questa obiezione sono stati confusi insieme i due concetti dell'**affinità chimica** che si riferiscono l'uno alla **stabilità**, l'altro all'**attività chimica**. Gli scambi dell'idrogeno dell'acido cloridrico o dell'acido solforico con metalli, dell'ossidrile della potassa o della soda con radicali acidi, sono estremamente facili e quindi sarebbe assurdo attribuire ai loro componenti una grandissima affinità nel senso della coesione chimica; è appunto il contrario che è esatto.

Invece è necessario ammettere che l'idrogeno del metano è legato al carbonio con grande affinità, perchè è necessario adoperare dei mezzi molto energici per separarlo. Sono perciò i composti chimicamente inattivi che sono formati da elementi aventi una grandissima affinità l'uno per l'altro, mentre nei composti che reagiscono facilmente e rapidamente i componenti non debbono essere legati affatto o almeno assai poco.

Abbiamo già più volte notato che gli elettroliti sono appunto le sostanze più attive, ed esiste una tale relazione fra il potere elettrolitico e la facilità di reazione che si può agevolmente dedurre una proprietà dall'altra. Si vede dunque che negli elettroliti si ha una debolissima coesione fra gli ioni.

A chi non è abituato a tali considerazioni può apparire strano che la soluzione di cloruro di potassio, ad es., rinchiuda del cloro e del potassio liberi, senza che si veda apparire alcuna delle proprietà degli elementi liberi che noi conosciamo; ma noi abbiamo detto ripetutamente che nella suddetta soluzione di cloruro di potassio non esistono liberi l'atomo di K e l'atomo di Cl, bensì l'ione K carico di elettricità positiva e l'ione Cl carico di elettricità negativa. È appunto questa carica elettrica che modifica così profondamente le proprietà chimiche delle sostanze.

Appena queste cariche elettriche vengano neutralizzate da quantità eguali di elettricità di nome contrario, somministrate dalla pila per mezzo degli elettrodi che si trovano immersi nella soluzione, l'ione K e l'ione Cl diventano l'atomo di potassio e l'atomo di cloro, assumendone tutte le proprietà fisiche e chimiche.

La teoria degli ioni liberi ha permesso di spiegare un grande numero di fatti, come ad es. **la legge di Hess sulla termoneutralità.** Due sali neutri che vengano sciolti contemporaneamente nell'acqua non danno in generale nessun cambiamento termico. Ciò avviene perchè appunto in questi casi non si ha nessun cambiamento o reazione chimica. Infatti una soluzione acquosa di cloruro di potassio è essenzialmente composta dai due ioni K e Cl; nello

stesso modo una soluzione di nitrato sodico è formata dai due ioni Na e NO^3; è quindi naturale che mescolando le due soluzioni gli ioni restino liberi come antecedentemente.

Per altro, questi fatti non si verificano con tutto il rigore che in soluzioni diluitissime, in cui la decomposizione in ioni è completa.

Operando con soluzioni più concentrate la legge non si verifica più con tutta l'esattezza, come del resto succede anche nei gas che, a pressioni forti, non seguono più esattamente le leggi di Boyle e Gay-Lussac. Ma le eccezioni che in questi casi si verificano, come al solito, in luogo di abbattere la legge non fanno che confermarla maggiormente.

Del resto anche fenomeni puramente chimici rendono evidente l'esistenza degli ioni nelle soluzioni degli elettroliti. Sappiamo, per es., dalla chimica analitica che il nitrato d'argento è un reattivo del cloro; difatti tutti i cloruri metallici e composti analoghi dànno un precipitato di cloruro d'argento. Peraltro non tutti i composti del cloro dànno, col nitrato d'argento, del cloruro d'argento; ad es., i sali degli acidi ossigenati del cloro, gli acidi mono-, bi- e tricloroacetici e moltissimi altri composti non dànno affatto cloruro d'argento.

Ora studiando più attentamente questa reazione col nitrato d'argento, si vede subito che si ha un precipitato di cloruro d'argento soltanto nei casi in cui in soluzione si ha il cloro sotto forma di ione Cl (**clorione**), mentre non si ha affatto se il cloro si trova a far parte di un ione più o meno complesso. Difatti coll'acido clorico, in cui il cloro si trova a far parte dell'ione ClO^3; coll'acido cloroso, in cui fa parte dell'ione ClO^2; coll'acido monocloroacetico in cui il cloro si trova nell'ione ($CO^2 — CH^2Cl$), ecc., per quanto contengano del cloro, non si ha affatto la formazione di cloruro d'argento.

Il nitrato d'argento dunque non è il reattivo dell'elemento cloro, ma dell'ione cloro. Lo stesso si potrebbe dire per i composti del ferro e per quelli degli altri elementi.

Si deve quindi asserire che la chimica analitica si fonda in gran parte sullo scambio degli ioni, e l'analitico non possiede reattivi per il tale o tal'altro elemento, bensì per quei dati ioni, siano essi radicali semplici, siano essi radicali più o meno complessi.

Abbiamo detto più innanzi che tutte le volte che una soluzione si scosta dalla legge generale del van t'Hoff, conduce elettroliticamente l'elettricità.

Ora lo studio della conducibilità elettrolitica delle soluzioni deve fornire un buonissimo metodo per determinare lo stato dell'elettrolite disciolto, perchè la quantità di elettricità che attraversa un liquido elettrolitico, restando costanti gli altri fattori (diluizione, temperatura, ecc.) è proporzionale al numero delle molecole conduttrici, vale a dire scisse in ioni.

Supponiamo di avere un recipiente formato da due elettrodi di grande superficie tenuti alla distanza di un centimetro per mezzo di pareti coibenti, e immaginiamo di aver posto in questo recipiente un liquido in quantità tale da contenere un **grammo-molecola dell'elettrolite, vale a dire sopra un litro di solvente un peso molecolare espresso in grammi.** Questo sistema avrà una resistenza determinata e una conducibilità corrispondente; poste queste condizioni, a questi due fattori si dà il nome di **resistenza molecolare** e di **conducibilità molecolare.**

La **conducibilità molecolare di un elettrolite dato aumenta col crescere della temperatura**, e per ogni grado di temperatura in più si ha nella maggior parte dei casi un aumento del 2 % circa. **Aumenta pure col crescere della diluizione**, e tende sempre a giungere ad un limite massimo. Per i buoni conduttori, per quanto l'aumento sia in proporzione molto più piccolo che pei cattivi conduttori, questo limite massimo si può ritenere in pratica dai due ai dieci mila litri di solvente, mentre pei cattivi conduttori per quanto si giunga a diluizioni estreme si hanno sempre valori ancora molto lontani dal limite.

La misura della conducibilità elettrica fu per molto tempo un'operazione difficilissima, perchè applicando i metodi in uso per i conduttori di prima classe, gli elettrodi della pila, che necessariamente dovevano stare immersi

nel liquido, diventavano in seguito alla polarizzazione il centro di forze elettromotrici speciali che alteravano considerevolmente i risultati.

Fu il KOHLRAUSCH che impiegando, in luogo di correnti continue, come per l'addietro, correnti alternate, cioè correnti il cui senso o direzione si cambia un gran numero di volte nell'unità di tempo, riuscì per il primo ad evitare l'influenza della polarizzazione, e rese possibile delle misure esatte. Il suo apparecchio è costruito sul diagramma di un ponte di WEATSTONE ed è rappresentato schematicamente dalla fig. 5.

Le correnti alternate prodotte da un piccolo rocchetto di induzione I sono condotte all'estremità di un filo di platino *a b* lungo poco più di un metro e posto sopra una scala divisa in millimetri. Da un lato passano nel filo *a d b*, e dall'altro nella cassetta di resistenza R e nel liquido conduttore L seguendo la traccia *a* R *c* L *b*. Da *c* un filo conduttore va a raggiungere il filo di pla-

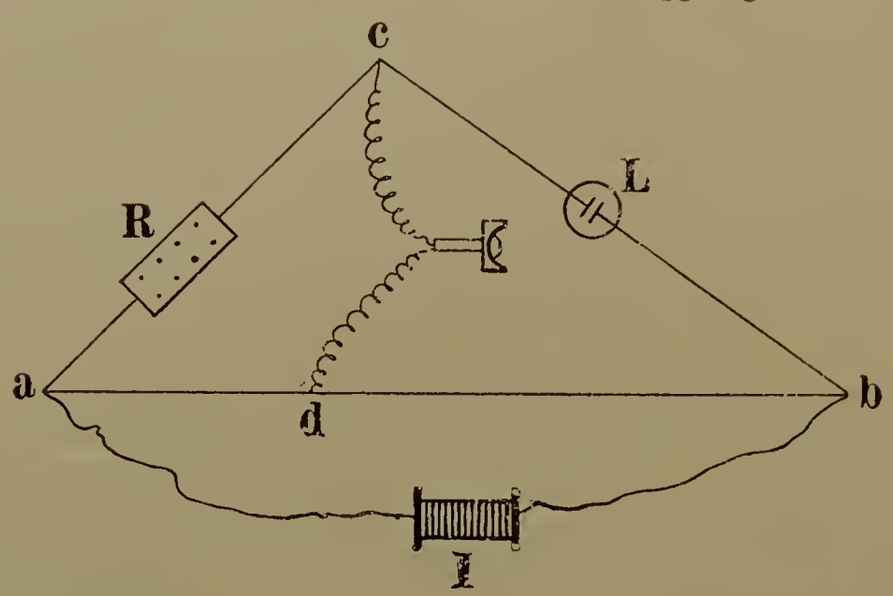


Fig. 5.

tino *a b* in *d* e si può spostare lungo il filo medesimo mediante un contatto mobile. In questo conduttore si intercala un telefono.

Sappiamo che in queste condizioni nessuna corrente attraversa il ponte di WEATSTONE quando la resistenza R sta alla resistenza L come *a d* sta a *d b*. Il silenzio del telefono indica che ciò si è realizzato. Si sposterà dunque il contatto mobile finchè non si sia giunto in un punto in cui il telefono non emette alcun suono.

Ora abbiamo detto che:

$$\frac{R}{L} = \frac{a\,d}{d\,b},$$

da cui la resistenza L cercata sarà uguale:

$$L = R\,\frac{d\,b}{a\,d},$$

e la conducibilità C sarà uguale:

$$C = \frac{1}{L} = \frac{a\,d}{R \times d\,b}.$$

Per calcolare la conducibilità molecolare μ per mezzo della misura così fatta bisogna moltiplicare la conducibilità trovata in L per la capacità elettrica del vaso di resistenza e per il numero di litri di solvente contenenti un grammo-molecola dell'elettrolite.

La capacità elettrica del recipiente si determina adoperando un liquido la cui composizione e conducibilità siano perfettamente note e determinando la sua resistenza.

Se si rappresenta con M la conducibilità molecolare del liquido in questione e con D la diluizione, si dedurrà il coefficiente K, che trasforma la conducibilità misurata in conducibilità molecolare per mezzo della relazione

$$M = K \frac{D \,.\, a\, d}{R \,.\, d\, b},$$

da cui:

$$K = M \frac{R \,.\, d\, b}{D \,.\, a\, d}.$$

Se perciò si vuol trovare la conducibilità molecolare μ di un liquido la cui diluizione sia δ si avrà

$$\mu = K \frac{\delta \,.\, a\, d}{R \,.\, d\, b}.$$

I recipienti nei quali si misura questa conducibilità hanno forme differenti a seconda dei casi e a seconda anche della maggiore o minor condu-

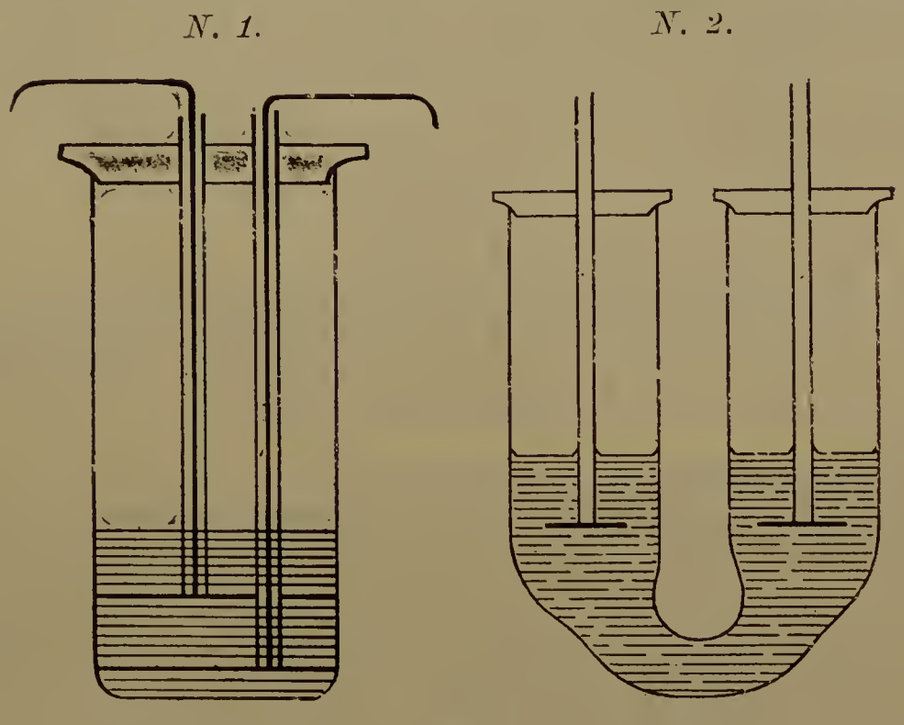


Fig. 6.

cibilità dell'elettrolite. Per i buoni conduttori si preferisce adoperare l'apparecchio n. 1, per i cattivi l'apparecchio n. 2.

I due elettrodi, che debbono avere almeno dieci cm. quadrati di superficie, sono di platino e debbono essere rivestiti di nero di platino, e ciò si fa ponendo l'elettrode in una soluzione di cloruro di platino e producendo l'elettrolisi, cambiando peraltro di tanto in tanto il senso della corrente.

I due fili di platino che sono riuniti agli elettrodi sono tenuti isolati fra loro da due tubetti di vetro che li rivestono. Con questi apparecchi non è possibile però di misurare resistenze inferiori a 10 **ohm**, nè superiori a 10,000 **ohm**.

Mediante numerosissimi esperimenti il KOHLRAUSCH nel 1876 giunse a stabilire una legge generale sopra i sali neutri, la cui forma coincide perfettamente con quella della termoneutralità di HESS, e che si può esprimere nel modo seguente:

Le conducibilità dei sali neutri si compongono additivamente di due valori, di cui il primo dipende unicamente dal metallo o ione positivo e il secondo dal radicale acido o ione negativo.

L'indipendenza della conducibilità dai due ioni del sale, che è dimostrata da questa legge, prova con certezza l'indipendenza mutua dei due ioni fra loro.

Abbiamo già detto ampiamente ciò che avviene allorchè la corrente attraversa un elettrolite; la forza elettromotrice della corrente tende a spostare gli ioni positivi nel senso della corrente, cioè verso l'elettrodo negativo, e gli ioni negativi in senso inverso. Ora la conducibilità (ossia la quantità di elettricità trasportata nell'unità di tempo dall'unità di forza elettromotrice) dipende dunque dal numero degli ioni come pure dalla loro velocità, quindi: **la conducibilità equivalente si presenta come una misura della velocità di trasmissione degli ioni.**

In questa legge si fa evidentemente l'ipotesi che tutte le molecole siano dissociate negli ioni e prendano quindi parte alla conducibilità elettrica.

Questa ipotesi non si verifica in generale, ma, ad es., le soluzioni saline molto diluite se ne allontanano così poco, che possiamo pel momento non tenerne conto.

Dalla differenza che si osserva fra le conducibilità elettrolitiche delle varie soluzioni saline diluitissime si può concludere, in primo luogo che la velocità di trasmissione dei vari ioni è differente, e di più, essendo la conducibilità del cloruro di potassio 18 a 19 volte maggiore di quella del cloruro di sodio (come pure ogni altra combinazione del potassio per rispetto a quella corrispondente del sodio), si deduce che l'ione potassio si sposta con una velocità 18 a 19 volte maggiore di quella dell'ione sodio.

Nello stesso modo si possono determinare le differenze fra le velocità dei vari ioni; ma si hanno sempre numeri relativi poichè le velocità reali non si possono dedurre dalla conducibilità elettrica.

Che gli ioni abbiano fra di loro velocità di traslazione differente fu provato con certezza da Hittorf, basandosi sul fatto che, posta vera questa differenza nelle velocità, si dovrebbe trovare in un elettrolite, attraversato dalla corrente, una concentrazione diversa ad un polo piuttosto che all'altro.

Si trovò infatti che le concentrazioni delle soluzioni non sono eguali ai due elettrodi.

Se si determina dunque dopo l'elettrolisi la diminuzione del tenore in sale agli elettrodi corrispondenti, il loro rapporto ci darà subito il rapporto fra le velocità di trasmissione degli ioni.

Ora gli acidi e le basi forti si comportano secondo la legge di Kohlrausch, ma ciò non avviene che in una misura assai ristretta per gli acidi e le basi deboli. Così l'acido fosforico e l'acetico e l'ammoniaca non presentano dei numeri che vadano d'accordo colla legge suaccennata; perchè la loro conducibilità elettrica è assai più piccola della velocità di traslazione dell'idrogeno per i primi due e dell'ossidrile per l'altra, in modo che anche facendo l'ipotesi che uno dei due ioni stesse fermo si arriverebbe a dei numeri che sarebbero sempre assai più grandi di quelli dati dall'esperienza.

Peraltro in queste ultime considerazioni noi non abbiamo tenuto conto di un fattore importante della conducibilità elettrica, che abbiamo accennato più innanzi, vale a dire il numero di molecole dissociate nei due ioni.

La conducibilità molecolare non potrà esser rappresentata come somma delle velocità di traslazione che allorquando il numero degli ioni è lo stesso.

Ora la determinazione del punto di congelamento di soluzioni diluite ed equivalenti di acido cloridrico e di idrato potassico ci fa vedere che l'abbassamento molecolare è quasi perfettamente il doppio di quello che corrisponderebbe teoricamente al peso molecolare delle due sostanze; dunque sono decomposte completamente nei due ioni. L'acido acetico e l'ammoniaca abbassano il punto di congelamento proporzionalmente al peso molecolare all'incirca come le sostanze organiche indifferenti, quindi non hanno che pochissimi ioni liberi. L'acido fosforico sta fra questi due gruppi; ma si avvicina piuttosto all'acido acetico che al cloridrico; è dunque decomposto parzialmente in ioni e non completamente.

È per ciò che non si potrà sempre rappresentare la legge di Kohlrausch mediante l'equazione

$$\mu = u + v$$

dove μ rappresenta la conducibilità molecolare ed u e v le velocità di traslazione dei due ioni. Sarà quindi necessario porla sotto la forma:

$$\mu = x\,(u + v)$$

in cui x rappresenta la frazione d'elettrolite che in soluzione è scissa negli ioni. Non è che nel caso di una diluizione infinita, in cui la decomposizione in ioni è completa e quindi $x = 1$, che la conducibilità molecolare corrispondente μ_∞ diventa realmente:

$$\mu_\infty = u + v.$$

La legge di KOHLRAUSCH perciò non è perfettamente esatta che nel caso della diluizione infinita; è dunque anch'essa una legge limite.

Ma abbiamo già detto più innanzi che i sali monovalenti, ad es., sono completamente dissociati ad un limite di diluizione che si può raggiungere facilmente nella pratica (all'incirca 10,000 litri); aumentando ancora la diluizione non si cambia niente nel loro stato. Si può perciò determinare sperimentalmente per essi i valori μ_∞ con un'approssimazione sufficiente. I sali formati da acidi deboli e basi energiche o acidi energici e basi deboli si comportano all'incirca come i sali formati da componenti entrambi energici. Studiando perciò questi sali si potrà facilmente dedurre la velocità di traslazione dei diversi ioni che corrisponde alle basi deboli e agli acidi deboli di modo che si può dire che in questa guisa questa proprietà si può misurare per tutti gli ioni.

Se dunque conosciamo il valore di u e di v a seconda delle equazioni

$$\mu = x\,(u + v) \text{ e}$$

$$\mu_\infty = u + v$$

potremo facilmente determinare la frazione d'elettrolite decomposta nei suoi ioni, vale a dire il **grado di dissociazione elettrolitica**; difatti dividendo membro a membro si ha

$$x = \frac{\mu}{\mu_\infty}.$$

Ciò che si esprime, dicendo che **il grado di dissociazione di un elettrolite sciolto ad una diluizione qualunque è uguale al rapporto fra la conducibilità molecolare per questa diluizione e quella per la diluizione infinita.**

Il grado di dissociazione ottenuto in questo modo è identico a quello ottenuto studiando le altre proprietà della materia allo stato di soluzione diluita (abbassamento del punto di congelamento e della tensione di vapore, ecc.); ma siccome con questo metodo si può spingere l'esattezza ad un grado molto maggiore che non si possa farlo cogli altri, così questo resta il più importante per la determinazione del grado di dissociazione x.

Questo grado di dissociazione oggi ha acquistato una grande importanza perchè è stato dimostrato essere una misura della **affinità chimica** di una data sostanza.

Noi abbiamo fin qui considerato i liquidi come corpi che possono prendere una forma qualunque, ma per quanto ciò sia vero pure le variazioni di forma necessitano un lavoro che è misurato dall'**attrito interno**. In generale quest'ultimo è assai debole, ma esistono peraltro dei liquidi il cui attrito interno è considerevolissimo. Più questo valore diventa grande più il corpo si avvicina allo stato solido, e si ha quindi un passaggio graduale dai veri liquidi (etere, aldeide acetica, ecc.) ai liquidi quasi punto mobili come la cera, la pece, ecc. e quindi ai solidi propriamente detti.

L'attrito interno entra in giuoco nel movimento dei liquidi anche quando ciò avvenga senza cambiamento di forma purchè però le molecole si spostino le une rispetto alle altre.

Il coefficiente di attrito interno che si indica con η **è uguale al lavoro necessario per spostare in un secondo due superfici piane di un centimetro quadrato parallelamente a loro stesse e di una quantità uguale alla loro distanza.**

L'attrito interno, detto anche viscosità, fu da prima studiato da Poiseuille, il quale usò un metodo basato sulla traspirazione del liquido a traverso di un tubo capillare. Coulomb, studiando il medesimo soggetto, si servì dello smorzamento che subiscono le oscillazioni di un ago o sbarra magnetica posta nel liquido in esame. Questo metodo fu poi usato anche da O. E. Meyer, Grotian, ecc. Poi Helmholtz propose di mettere il liquido da investigare in una sfera cava e di osservarne il comportamento nelle sue oscillazioni.

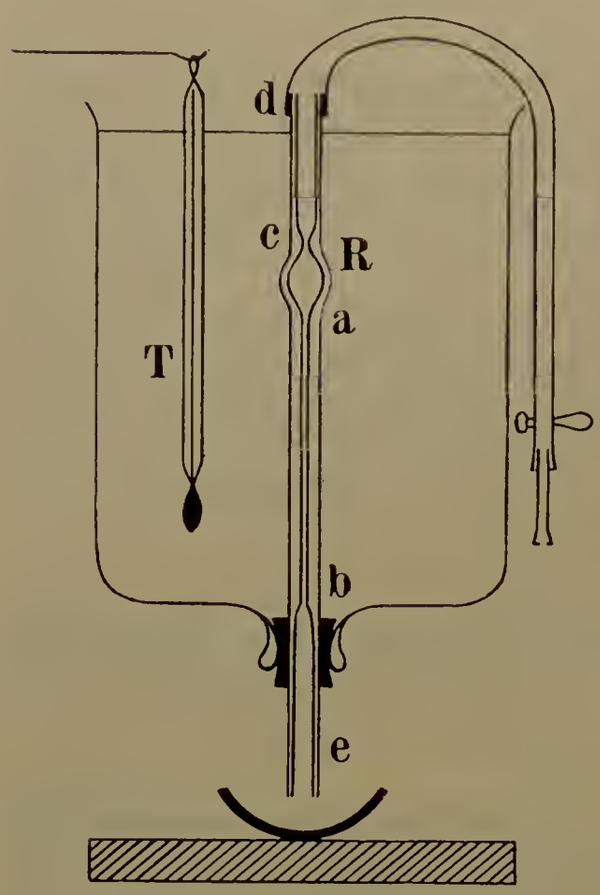


Fig. 7.

Generalmente, però, anche oggidì si preferisce il metodo originale di Poiseuille, per la sua semplicità e perchè richiede una piccola quantità di liquido per fare la determinazione.

Hagenbach sviluppò la formola matematica della viscosità. Quando si omette la correzione della velocità di deflusso, l'espressione del coefficiente di viscosità (η) si riduce a questa:

$$\eta = \frac{\pi}{8} \frac{r^4 h s t}{l v},$$

in cui r indica il raggio del capillare, h l'altezza della colonna liquida, s il peso specifico del liquido (e quindi il prodotto $h \times s$ indica la pressione), v rappresenta il volume del liquido che sgorga nel tempo t, l designa la lunghezza del tubo capillare e π il noto rapporto fra la circonferenza e il diametro.

Le relazioni contenute nella formola suaccennata, vale a dire che il volume del liquido sgorgato è proporzionale alla pressione e alla quarta potenza del raggio ed inversamente proporzionale alla lunghezza del tubo, erano state già stabilite empiricamente dal Hagen (1839) e dal Poiseuille (1843).

La concordanza perciò fra l'esperienza e la teoria giustifica l'ipotesi che **l'attrito interno è proporzionale alla grandezza delle superfici che si strofinano e alla velocità relative del loro movimento.**

Ma la formola di Hagenbach non è perfettamente esatta se non nel caso in cui tutto il lavoro fornito dalla pressione serva a vincere l'attrito.

Per altro, in realtà ciò non si verifica mai, poichè il liquido abbandona il tubo con una certa velocità finale o in altre parole con una certa energia cinetica.

È perciò che si sono dovute fare alla formola suddetta delle correzioni per la conoscenza delle quali rimandiamo ai trattati speciali.

Come abbiamo accennato più sopra il principio su cui ci si basa oggi per determinare il coefficiente d'attrito interno o di viscosità è quello di Poiseuille; ma è sempre una delle determinazioni più delicate e difficili a causa sopratutto delle difficoltà che incontriamo nella calibrazione perfetta dei tubi capillari e nella loro costruzione perfettissimamente cilindrica. È perciò che ci si contenta, in luogo di valori esatti ed assoluti di trovare dei valori relativi al coefficiente di viscosità dell'acqua che si prende come unità. Si deve ancora lasciare al progresso della scienza la cura di esprimere l'unità scelta in misure assolute con un grado di approssimazione almeno soddisfacente.

L'apparecchio che viene spesse volte usato e che è uno dei migliori per queste determinazioni è quello dell'OSTWALD rappresentato nella fig. 7. Consiste essenzialmente in un tubo *d c* che in *d* è largo qualche millimetro; in *c* si allarga molto di più per formare il rigonfiamento R e in *a* diventa capillare, e rimane tale fino in *b*, in cui si riallarga come in *d*.

Si riempie l'apparecchio per aspirazione fino al punto *a*, e si determina il tempo che mette la superficie superiore del liquido per passare dal segno corrispondente al punto *a* all'altro segno corrispondente al punto *c*. Se t è il tempo impiegato in questo percorso da un liquido di peso specifico s e τ il tempo impiegato dall'acqua, l'attrito interno relativo che indicheremo con ρ è espresso dalla relazione

$$\rho = \frac{s\,t}{\tau}$$

essendo le pressioni nei due casi nel rapporto $\frac{s}{1}$.

Ma l'OSTWALD ha in seguito modificato il suo apparecchio, redendolo più semplice e maneggevole. Questa nuova forma, che specialmente si usa nelle determinazioni della viscosità relativa, è quella di cui io stesso mi son ser-

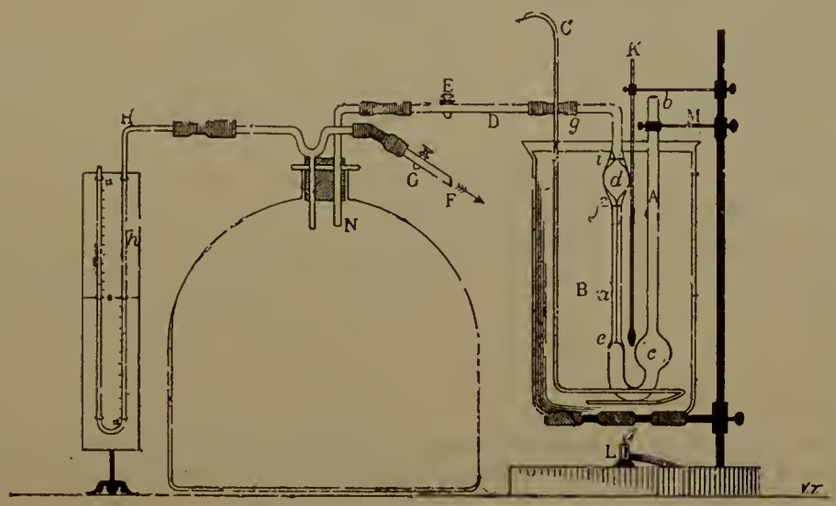


Fig. 8.

vito nelle determinazioni da me fatte dell'attrito interno di alcuni liquidi dell'organismo e di alcune soluzioni di sostanze proteiche (ved. in seguito). Nella figura soprastante ho voluto riprodurre tutta la disposizione dell'apparecchio, quale io ho adottato nelle determinazioni dianzi accennate (fig. 8).

L'apparecchio *A*, il cui capillare è fatto d'un pezzo di tubo termometrico ben calibrato ed è lungo cm. 11.5, è immerso in un gran vaso *B* di vetro a pareti sottili, della capacità di circa 4 litri, pieno di acqua bollita. Fissato nel mezzo del vaso per la sua branca *b*, comunica per l'estremità *g*, piegata ad angolo retto, dell'altra branca *a* col tubo *D*, che nel suo mezzo porta un rubinetto *E*. Il tubo *D* comunica poi con l'interno della grande boccia *I*, della capacità di circa 10 litri, mediante un altro tubo *N*, che passa attraverso uno dei due fori del tappo di caoutchouc che chiude la boccia. Attraverso l'altro foro dello stesso tappo passa un tubo che conduce all'esterno da una parte al tubo *F*, che porta il rubinetto *G*, e dall'altra al tubo manometrico *H*.

Nel vaso *B* trovasi inoltre un termometro di Baudin *K*, sensibilissimo, sospeso fra le due branche di *A*, e diviso in decimi di grado, e l'agitatore *C*. Sotto il vaso trovasi una fiammella a gas *L*, che serve per riscaldare l'acqua del vaso *B*.

Quando si vuol fare una determinazione si comincia a versare 8 cc. del liquido da asaminare per l'estremità *b* nell'apparecchio *A*, e si porta l'acqua

del vaso B alla temperatura voluta (nelle mie determinazioni 15° o 39° C). Dopo qualche tempo (circa 1 ora), il liquido contenuto in A ha preso sicuramente la temperatura del bagno. Allora si chiude il rubinetto E, si apre il rubinetto G e si aspira con la bocca per F finchè l'acqua nel tubo barometrico abbia raggiunto una determinata e sempre eguale altezza nella branca h. Si chiude quindi il rubinetto G; se non vi sono fughe in tutto il sistema e le congiunture (è bene ricoprirle di grasso piuttosto solido) dei tubi tengono bene, l'altezza della colonna liquida in h, quando ha raggiunto il punto stabilito (— 240 mm. di pressione), non si modifica più.

Allora l'osservatore si mette davanti all'apparecchio, fissando con lo sguardo l'altezza del liquido in a, fa aprire da un assistente il rubinetto E; il liquido tosto comincia a montare nel capillare, aspirato dalla pressione negativa esistente nella boccia I, e, quando esso ha raggiunto il segno f, mette d'un colpo in movimento l'indice del contasecondi che tiene in mano. Il liquido continua a montare, finchè, riempita la bolla superiore d, giunge al segno i. In questo momento l'osservatore arresta l'indice del contasecondi, chiude il rubinetto E, e prende nota del tempo che ha impiegato il liquido per giungere dal segno f al segno i dell'apparecchio, fluendo per il capillare $e\ f$.

Per la misurazione del tempo di deflusso, è bene servirsi d'un ottimo contasecondi, p. e. quello fabbricato dalla casa E. Deschiens [1]) di Parigi. In esso si leggono comodamente i decimi di secondo.

Come consiglia Ostwald, il capillare non dev'esser troppo stretto nè più lungo di 10-12 cm., e la capacità della bolla d dev'esser tale (quella del mio apparecchio conteneva circa 6 cc. di liquido) che il tempo di deflusso non risulti mai minore di 100 secondi.

Si comprende facilmente che maggiore è il tempo di deflusso e minori sono le cause d'errore nelle determinazioni.

Nemmeno è prudente fare nella boccia I una pressione negativa troppo forte; quella scelta da me, di — 240 mm. di acqua, è una pressione conveniente. Quando, al cominciare dell'esperienza, si apre il rubinetto E, la colonna liquida tosto s'abbassa nella branca h del manometro, perchè nello stesso momento la boccia I è messa in comunicazione con lo spazio pieno d'aria compreso fra il rubinetto e l'estremità della colonna liquida nel capillare dell'apparecchio. L'abbassamento è di 5-6 mm., ed è lo stesso in tutte le esperienze. La pressione rimane poi pressochè invariata durante tutto il tempo dell'esperienza.

Gran cura bisogna avere perchè la temperatura del bagno rimanga costante; e vi si riesce meno difficilmente di quel che si possa credere adoperando una gran massa d'acqua (circa 4 litri) e agitandola uniformemente e incessantemente durante il tempo dell'esperienza. L'importanza della costanza della temperatura risulta dal fatto che variazioni di 1 grado cagionano modificazioni del 2 % nell'attrito interno (Ostwald).

Dopo ogni determinazione, l'apparecchio va smontato, e lavato internamente prima con acqua distillata, e poi con alcool ed etere. Non è consigliabile di asciugarlo in una stufa ad alta temperatura, perchè le modificazioni che così si provocano nel lume del capillare non si dileguano presto.

Invece è comodissimo, dopo averlo lavato con etere, asciugarlo mediante una corrente d'aria. Di tanto in tanto è bene anche lavarlo con un acido diluito.

Servendosi di quest'ultimo apparecchio, se t_0 è il tempo di deflusso del liquido normale (H^2O), il cui peso specifico è s_0, e il cui coefficiente di viscosità è η_0, i valori t, s ed η per qualunque altro liquido si deducono dalla seguente formola:

$$\eta : \eta_0 = s\,t : s_0\,t_0\,,$$

[1]) E. Deschiens, 123. Boulevard Saint-Michel, Paris.

ossia

$$\eta = \eta_0 \frac{s\,t}{s_0\,t_0},$$

in cui si mette η_0 o eguale al valore assoluto conosciuto od eguale a 1.

Io, nelle mie determinazioni, ho scelto come unità l'attrito interno dell'acqua distillata a 15° e a 39° C.

Se, del resto, si può fare astrazione dal peso specifico, come accade quando si fanno delle determinazioni comparative con un medesimo liquido, si può anche più semplicemente determinare il tempo di deflusso, rimanendo identiche la pressione, la temperatura, non che l'ampiezza e la lunghezza del capillare. Questi tempi di deflusso possono poi essere paragonati fra loro.

Volendo riportare i valori ottenuti ad η_0 fatto eguale ad 1, si utilizzano come densità dell'acqua distillata i seguenti numeri :

a 15° C. 0,99916
a 39° C. . . . . 0,99273.

Nonostante tutti gli sforzi degli scienziati che si sono occupati di questa questione, siamo ancora molto indietro nella conoscenza esatta dei fenomeni che vi si riferiscono, come ad es. il valore dei coefficienti di viscosità dei liquidi non sono stati collegati in modo generale alla composizione e costituzione chimica dei corpi. Ricerche su questo soggetto furono fatte prima da Graham, in seguito da Rellstab e da vari altri. Ma le relazioni generali ottenute si restringono a qualche regola valevole entro certi limiti.

Per quanto riguarda la dipendenza della viscosità dei liquidi dalle dimensioni dei tubi e dalla pressione, Hagen e Poiseuille stabilirono che **la quantità W di acqua traspirante è direttamente proporzionale al tempo t, alla pressione D e alla quarta potenza del raggio r, e inversamente proporzionale alla lunghezza l del tubo**; ossia :

$$W = C \cdot \frac{t \cdot D \cdot r^4}{l},$$

in cui C è una costante dipendente dalla natura del liquido e dalla temperatura.

Per sostanze semplici pure, Graham trovò poi che **il tempo di deflusso, essendo eguali le altre condizioni, aumenta col peso molecolare, e, in generale, è in rapporto colla costituzione chimica del liquido; per le serie omologhe, esso è anzi proporzionale al peso molecolare.**

Per tutti i liquidi e soluzioni, il **tempo di deflusso diminuisce con l'aumentare della temperatura**, e, forse, a temperature un po' alte di egual pressione di vapore i **rapporti fra i tempi di deflusso di corpi omologhi diventano costanti**, naturalmente anche quando si riportano ai pesi molecolari o a pesi eguali. Si noti che il carattere della diminuzione della viscosità con l'elevarsi della temperatura è molto differente per le differenti concentrazioni e per le differenti soluzioni saline.

Riguardo all'attrito interno dei miscugli e delle soluzioni, si sa, innanzi tutto, che **piccole quantità di gas sciolti in un liquido possono influire notevolmente sulla sua viscosità; e propriamente la viscosità d'una soluzione di gas sembra essere tanto maggiore quanto maggiore è l'attrito interno del gas stesso.**

Per la massima parte dei liquidi, dati certi determinati rapporti quantitativi della mescolanza di essi con l'acqua, esistono dei massimi di viscosità, che sono vicini ai valori massimi di contrazione che subisce il volume del miscuglio, ma che si spostano per l'influenza della temperatura.

Per le soluzioni saline, si sa che il **tempo di deflusso di soluzioni di egual concentrazione è tanto maggiore quanto minore è il peso molecolare del sale disciolto.**

Inoltre è stato dimostrato, che l'**attrito interno di soluzioni saline equimolecolari è essenzialmente una proprietà additiva, che risulta in parte dal-**

l'influenza del metallo, in parte da quella del radicale acido, poichè questi due costituenti agiscono indipendentemente l'uno dall'altro come se non fossero legati insieme.

Un altro rapporto esiste fra l'attrito interno e il sistema periodico, e consiste in ciò che il primo diminuisce con l'aumentare del peso atomico.

Questi ultimi sono i soli principii stechiometrici che si son potuti finora stabilire relativamente all'attrito interno dei liquidi. Le altre proposizioni, come dicemmo, non possono, invece, essere considerate che come fatti generali empiricamente dimostrati.

Un altro fatto importantissimo che non è stato possibile ancora di determinare è quello di sapere a che temperatura i coefficienti d'attrito dei vari liquidi erano comparabili; difatti questi coefficienti diminuiscono rapidissimamente quando la temperatura cresce. Il Graetz ha dato recentemente una legge per esprimere queste variazioni, ma la sua applicazione non ha portato ad alcun fatto generale.

Le soluzioni hanno dato un maggior numero di risultati soddisfacenti.

Da quando Arrhenius annunziò la sua teoria sulla dissociazione, l'argomento della viscosità delle soluzioni ha avuto un interesse di molto superiore, e sono stati fatti esperimenti per cercare di stabilire qualche relazione stechiometrica e una relazione fra viscosità e conducibilità. Nei suoi primi esperimenti Arrhenius stesso mostrò che la viscosità è una funzione di x e di y, che si può rappresentare con:

$$H\ (x\ ,\ y),$$

in cui x e y esprimono il percento della sostanza disciolta o l'equivalente in grammi per litro. Noi possiamo dire che

$$\eta = H\ (x\ ,\ y) = A^x B^y,$$

in cui A e B sono costanti della soluzione e η è il solito coefficiente di viscosità.

Wagner e Reyher verificarono questa legge per una gran quantità di soluzioni; e il secondo trovò una caratteristica relazione fra la viscosità di acidi liberi e quella dei sali di sodio, a seconda che si trattava di un acido forte o debole, ed affermò che questa relazione dipendeva dall'ineguale dissociazione degli acidi forti o deboli.

Infatti si ha ragione di credere che esista una relazione fra la viscosità e la conduttività; e G. Wiedemann ha inoltre anche affermato che la velocità degli ioni varia nello stesso modo come l'attrito interno del liquido, e che quindi la mobilità degli ioni deve essere una funzione della fluidità della soluzione.

Ma Arrhenius mostrò che la conduttività non dipende solamente dalla fluidità (mobilità), poichè trovò che l'introduzione di una sostanza non conduttrice in un elettrolite modifica contemporaneamente la sua conduttività e la sua viscosità.

Altri sperimentatori, comparando direttamente la conduttività e la viscosità di diversi liquidi, sono giunti alla conclusione che mentre la conduttività aumenta in una serie di sali, la viscosità in generale diminuisce. Tuttavia le serie crescenti e decrescenti non si trovano in un rapporto definito fra loro.

Lo sviluppo ulteriore della scienza deciderà in proposito.

Le nozioni di chimica-fisica sviluppate nelle pagine che precedono hanno trovato già in parte qualche applicazione nella chimica fisiologica, come vedremo particolareggiatamente nei capitoli seguenti.

Ma un'applicazione anche più estesa, e con resultati più numerosi e più sicuri, si deve sperare ch'esse vadano in avvenire acquistando per opera degli studiosi, specialmente con lo scopo di chiarire quali

modificazioni subiscono i principii stabiliti per le soluzioni saline semplici quando si tratta di soluzioni saline in liquidi colloidi, o più propriamente di soluzioni acquose di miscugli salino-proteici, come possono essere considerati i liquidi dell'organismo animale. Le scarse cognizioni acquistate in proposito, specialmente in questi ultimi anni, non sarebbero però bene intese, prima di conoscere le proprietà delle sostanze proteiche e colloidi in generale.

§ 11. — Ed ora veniamo a parlare in modo speciale dei vari sali che si trovano nell'organismo animale. I principali sono:

Cloruri di sodio e di potassio, **solfati** di sodio e di potassio, **fosfati** di sodio, potassio, calcio e magnesio, e **carbonati** di sodio e di calcio.

Abbiamo già detto, e avremo occasione di constatarlo meglio nella parte speciale, che nelle **ossa** e tessuti affini predominano i sali di **calcio**, specialmente i fosfati; che i sali di **potassio**, salvo alcune eccezioni (tessuto polmonare, globuli rossi di alcuni animali), prevalgono nei **tessuti**, negli **elementi formati**, mentre i **liquidi** (ad eccezione del **latte**) sono più ricchi in sali di **sodio**, specialmente di cloruri e di carbonati.

I **cloruri**, e specialmente il **cloruro di sodio**, si distingue da tutti gli altri sali minerali, perchè è l'unico che ordinariamente viene aggiunto all'alimentazione giornaliera tanto dell'uomo, quanto di molti erbivori. BUNGE, che ha dedicato uno studio speciale a questo argomento, ritiene che il bisogno che hanno gli erbivori d'introdurre del sale di cucina deriva dal fatto che i loro alimenti (vegetali) sono molto ricchi di sali di potassio. Secondo BUNGE, i sali di sodio e di potassio reagiscono fra loro, non solamente nelle ordinarie soluzioni acquose, ma anche nei succhi organici, per modo che avviene una doppia decomposizione, in seguito alla quale accanto al K Cl comparisce il sale sodico del corrispondente acido, vale a dire o fosfato o carbonato di sodio. Se, per esempio, giunge nel sangue una quantità considerevole di $K^2 CO^3$, per doppia decomposizione coi sali sodici del plasma, si formano K Cl e $Na^2 CO^3$:

$$CO\begin{matrix}OK\\OK\end{matrix} + 2\,NaCl = CO\begin{matrix}ONa\\ONa\end{matrix} + 2\,KCl,$$

due sali in gran parte estranei alla normale composizione di esso, e che per ciò, come vi si trovano in eccesso, vengono tosto eliminati. Ma in questo modo il sangue s'impoverisce di Cl e di Na, onde la necessità dell'ingestione del Na Cl, specialmente da parte di animali che si nutriscono prevalentemente di sostanze molto ricche in sali di K. BUNGE riescì, mediante l'ingestione di 18 grammi di K in forma di fosfato o di citrato nel corso di una giornata, a sottrarre al suo proprio corpo più di 6 grammi di Na Cl.

Però ricerche posteriori di LANDSTEINER hanno dimostrato che non è possibile sottrarre grandi quantità di Na ad un coniglio nu-

trito per lungo tempo con alimenti ricchi di sali potassici; ma, per varie ragioni, le esperienze di questo A. non sono in grado di decidere la questione. Invece potrebbe obbiettarsi al BUNGE che alimentando un animale o l'uomo stesso con sostanze ricche di sali potassici e senza l'aggiunta di Na Cl, non si osservano disturbi della digestione o del ricambio, benchè tutti ammettano l'influenza benefica che esercita il Na Cl aggiunto all'alimentazione di alcuni erbivori. Forse andrebbe anche ricordato che i sali potassici sono eminentemente tossici, e che in assenza di sali sodici l'organismo dovrebbe provvedere al mantenimento della normale pressione osmotica del sangue per mezzo di essi, il che riescirebbe dannoso.

I cloruri servono anche all'elaborazione dei succhi digestivi, e sembra che abbiano qualche ufficio nella secrezione renale, giacchè i prodotti terminali azotati del ricambio materiale debbono essere escreti in soluzioni acquose contenenti anche cloruri (BUNGE). Ma i cloruri di sodio e di potassio hanno, secondo MOLESCHOTT, un'altra notevole importanza, quella di tenere in soluzione una certa quantità di sali terrosi e di ossido di ferro. Il K Cl — egli dice — conferisce all'acqua la proprietà di sciogliere il $Ca\,CO^3$. Il Na Cl e gli ordinari fosfati alcalini sciolgono nelle loro soluzioni considerevoli quantità di fosfati terrosi e di fosfato d'ossido di ferro. LASSAIGNE, infatti, ha dimostrato che un litro d'una soluzione di Na Cl contenente $^1/_{12}$ di questo sale è capace di sciogliere circa 6 grammi di fosfati terrosi.

§ 12. I **fosfati** di sodio e di potassio contribuiscono da una parte all'acidità dell'orina e dall'altra all'alcalinità del sangue, e in questo, insieme coi carbonati provvedono all'importante funzione della fissazione e trasporto dell'CO^2 dai tessuti alla superficie polmonare. I **carbonati** ($Na^2\,CO^3$ e $Na\,HCO^3$) vengono introdotti in parte con gli alimenti e le bevande, ma in gran parte si formano nello stesso organismo per ossidazione dei sali degli acidi citrico, tartarico, ecc., contenuti negli alimenti vegetali.

§ 13. — I **sali di calcio** hanno un'importanza grandissima. Essi conferiscono, insieme con quelli di Mg, alle ossa la loro solidità. Ma, oltre a ciò, e al fatto della loro indispensabilità nella nutrizione dei lattanti, meritano una speciale menzione, perchè sembrano essere necessari alla normale solubilità di alcune proteine, quali il fibrinogene, la caseina, le mioproteine, ecc. Basta infatti sottrarre il calcio mediante l'acido ossalico, o, in altre parole, trasformare i sali di calcio solubili in sali insolubili, sia che essi si trovino liberi o combinati con le sostanze proteiche, perchè queste rimangano alterate. L'aggiunta di una piccola quantità di ossalato di sodio, d'ammonio, ecc., impedisce o ritarda di molto la coagulazione del sangue, del plasma muscolare, del latte. Notevole è poi il fatto della minima

quantità di sale di calcio sufficiente alla normale costituzione delle proteine. Sembra finalmente che un contenuto piccolissimo di sale di calcio non manchi in nessun elemento morfologico.

I sali di calcio sono indispensabili perchè si verifichi il fenomeno della contrazione muscolare, e pare anche quello del *rigor mortis*. L'azione eminentemente paralizzante dei sali dell'acido ossalico sugli elementi muscolari striati (HOWELL, ecc.) e lisci (BOTTAZZI) e sui nervi, e dell'irrigazione prolungata di questi con soluzioni fisiologiche di $NaCl$, molto probabilmente è dovuta alla sottrazione dei sali di Ca, benchè sembri sia impossibile privare completamente le proteine (RINGER, LOCKE) del Ca, che contengono.

Il fosfato di calcio si trova in quantità considerevole in tutti i tessuti ed accompagna tutte le sostanze proteiche del sangue. Esso dev'esser considerato come uno dei sali più importanti nella formazione dei tessuti (MOLESCHOTT). Notevole è il fatto che la sua quantità è tanto maggiore nelle ossa, quanto maggiori sono gli sforzi cui esse sono abitualmente sottoposte (VON BIBRA).

(Per altri sali, che si trovano in piccole quantità, o accidentalmente, quali il NH^4Cl, il $(NH^4)^2CO^3$, il $CaFl^2$, ecc., ved. sopra).

§ 14. Dalle numerose ricerche più recenti di RINGER e dei suoi discepoli sull'azione fisiologica dei sali di K, di Na, di Ca, ecc. risultano numerosi fatti, aventi una grande importanza biologica, che noi qui vogliamo brevemente riassumere.

1.° In generale, i sali di K, di Na, di Ca impediscono, probabilmente per azione fisico-chimica, l'influenza disintegrante che l'acqua distillata esercita, da sola, sugli organismi in esso immersi (*Tubifex rivulorum*, pesci, rospi, uova di rospi, ecc.).

2.° Una piccolissima quantità di sale di calcio è assolutamente indispensabile a mantenere la vita degli animali viventi in acqua e allo sviluppo delle uova, in essa immerse; esso, oltre a ciò, inibisce l'azione paralizzante dei sali di potassio, ed è anche capace di ristorare l'organismo che a questa azione sia stato antecedentemente esposto.

3.° Ma nei sali minerali, in generale, bisogna distinguere, secondo RINGER, almeno due proprietà. « Alcuni sali — egli dice — posseggono la proprietà di mantenere l'integrità strutturale dei tessuti; altri sono capaci di sostenere l'attività funzionale. Le due proprietà non sono necessariamente combinate in uno stesso sale: un sale che può sostenere la funzione d'un organo può essere molto insufficiente o affatto incapace a mantenerne l'integrità strutturale. Alcuni sali però, come il $CaCl^2$, il $NaHCO^3$, ecc., posseggono entrambe le proprietà, e sono capaci p. e. ad impedire non solamente l'azione distruttiva dell'H^2O sulle cellule vibratili dell'epitelio branchiale, ma anche a far ritornare il movimento delle loro ciglia, cessato sotto l'influenza

dell'acqua distillata. Altre sostanze minerali, invece, anche in soluzioni diluitissime, sono capaci d'impedire l'azione dissolvente dell'H^2O sugli elementi morfologici del rivestimento cutaneo, benchè per sè stesse siano veleni potentissimi. Tali sono: l'acido cianidrico, il cianuro di potassio, l'ossalato di potassio neutro, gli acidi minerali più energici, ecc. Un'interpretazione giusta di questo fatto lo stesso RINGER confessa che non è possibile dare per ora.

4.° Notevole è poi l'influenza che esercitano i sali di K, di Na, di Ca e suoi affini sopra la funzione motoria dei tessuti contrattili. In base alle osservazioni, specialmente di RINGER e suoi discepoli sugli elementi muscolari striati e di BOTTAZZI sugli elementi muscolari lisci, si può affermare che i sali di potassio favoriscono l'espansione del tessuto contrattile, se agiscono in piccolissima quantità, e producono una sospensione, un'inibizione del potere di contrazione, se agiscono in quantità eccessiva; mentre i sali di calcio (e anche quelli di stronzio e di bario) favoriscono la contrazione, e in quantità relativamente grande provocano contrattura più o meno durevole e forte.

5.° Da questi ed altri fatti resulta un antagonismo reciproco e pronunziato, particolarmente fra i sali di potassio e i sali di calcio; mentre i sali d'ammonio, di sodio, di stronzio, di bario si aggruppano intorno ai primi, possedendo proprietà antagonistiche meno pronunziate.

6.° Da ciò la necessità che sali di sodio, e sopratutto di potassio e di calcio siano insieme contenuti nei liquidi che servono nelle esperienze fisiologiche come liquidi nutritivi artificiali. Uno dei migliori miscugli salini nutritivi ha la seguente composizione:

soluzione (0,6 - 0,75 - 0,95 %) di $NaCl$ . .	100 cm^3
soluzione 1 % di $Ca(NO^3)^2$	4 »
soluzione 1 % di KCl o KNO^3	1 »
soluzione 1 % di $NaHCO^3$	2-3 »

Anche nelle piante questi sali minerali sembrano promuovere combinazioni e decomposizioni chimiche, in conseguenza delle quali vengono ad essere elaborate in quantità maggiore le sostanze organiche ricche d'energia tensiva (SACHS).

§ 15. — La **sottrazione dei sali minerali** contenuti negli alimenti riesce agli animali straordinariamente nociva, ed esiste per questi, come per le piante, quella che LIEBIG chiamò **legge del minimum**.

Della privazione di sali soffrono in primo luogo gli organi nervosi centrali, le cui lesioni si rivelano con fenomeni paralitici, tremore muscolare, disturbi visivi, ecc.; dopo, sono attaccate anche le funzioni vegetative.

La piccola diminuzione dei componenti minerali che si osserva in un animale morto per inanizione salina, e la rapida diminuzione dei sali inorganici nell'orina dello stesso animale durante la vita, mentre dimostrano che l'organismo ritiene energicamente le sue sostanze minerali, provano anche come lo stesso sia sensibile alle minime sottrazioni di esse, tanto da soccombere in un tempo più breve che se fosse lasciato semplicemente a digiunare. I cani di FORSTER nutriti con grasso e con carne privata dei suoi sali non vissero più di 21-30 giorni, mentre cani tenuti a completo digiuno possono vivere fino a 60-67 giorni. Anche il SANARELLI trovò che gli animali (cavie) cui vengono sottratti intieramente i sali degli alimenti sopravvivono poco alla inanizione minerale (21-23 giorni); che il peso del corpo diminuisce sempre più o meno fortemente, salvo in qualche caso. Egli poi osservò una notevole diminuzione dei sali negli organi, ad eccezione del cervello, dove l'acido fosforico sembra resistere tenacemente all'impoverimento generale. Nel rimanente del corpo tale impoverimento è più sensibile riguardo alla calce ed al ferro, il quale ultimo oscilla poco al di sotto della media normale.

Il SANARELLI però ebbe ad osservare che l'aggiunta di Na Cl al regime alimentare privo di altri sali, mentre non arresta un istante il dimagramento progressivo degli animali, i quali non possono vivere più di 20-22 giorni con vitto costituito esclusivamente di idrati di carbonio, d'albumina e di grasso, d'altro lato sembra costituire un elemento di risparmio per tutti gli altri sali inorganici dei tessuti. Gli animali, cui era stato concesso, infatti, il solo Na Cl, perdettero ben poco di elementi minerali rispetto alla media, che si sarebbe ottenuta dopo un'alimentazione completa.

Ciò dimostra, ci sembra, che non è nella perdita assoluta dei sali che risiede la causa della morte per inanizione minerale.

Essa sarebbe, invece, dovuta, come dicemmo sopra, secondo BUNGE, a un'**intossicazione acida** operata dall'acido solforico formantesi per effetto dell'ossidazione delle proteine, il quale non trovando elementi minerali liberi, cui fissarsi, attaccherebbe la sostanza vivente. Le esperienze di LUNIN confermerebbero le vedute di BUNGE, perchè i suoi topi nutriti con alimenti privi di sali, cui però era stata aggiunta una determinata quantità di Na OH pura, vissero 23-36 giorni, mentre altri nutriti allo stesso modo, ma senza l'aggiunta di Na OH, morirono in capo a 11-21 giorni. E per dimostrare che la Na OH nelle sue esperienze agiva principalmente come alcali libero neutralizzante l'H^2SO^4 e non come semplice sostanza minerale, egli aggiunse al vitto privo di sali di altri topi la quantità corrispondente di Na Cl, e trovò che questi animali morivano anche dopo 6-20 giorni, vale a dire come quelli cui non era stato somministrato nè Na Cl, nè Na O H.

Notevole è il fatto che a mantenere in vita gli animali non vale

aggiungere la quantità di sali, corrispondente a quella contenuta in una dieta normale, agli alimenti privati delle loro sostanze minerali. Anche in simili esperienze i topi muoiono fra i 20 e i 31 giorni (LUNIN). Ciò fu confermato in seguito da SOCIN. A spiegare questo strano risultato non si può invocare altra ragione che questa: che i sali minerali sono utilizzabili solo quando penetrano nell'organismo in una data combinazione con le sostanze organiche alimentari, combinazione che artificialmente non si riesce ad ottenere, nemmeno nel tubo digerente. Lo stesso resultato deve presupporre un'altra condizione: che, cioè, durante gli sdoppiamenti proteolitici che avvengono nello stomaco e nell'intestino gli elementi minerali, se subiscono anch'essi delle modificazioni nei loro rapporti con gli elementi proteici, non li abbandonano però, ma li seguono nei loro prodotti di scissione più semplici, e in guisa tale da render possibile un nuovo congiungimento delle molecole semplificate nella forma primitiva, al di là della parete intestinale.

La mancanza dei sali di Ca nell'alimentazione dei lattanti produce uno sviluppo difettoso del sistema scheletrico (rachitide) (FORSTER, E. VOIT); e CHOSSAT osservò che anche piccioni adulti alimentati con grani lavati e con H^2O finivano per presentare ossa fragili e sottili.

C. — I GAS.

§ 16. — Dopo quanto è stato detto a proposito dell'O, dell'H, dell'N e dell'CO^2 nel cap. I, sarebbe inutile tornare a parlare in modo speciale dei gas che s'incontrano nell'organismo animale; tanto più che ci dovremo occupare a lungo di alcuni di essi quando tratteremo del sangue e dello scambio respiratorio.

(Per le quantità di gas contenute nei liquidi dell'organismo, vedasi tab. II e III; per l'O e l'CO^2 ved. SANGUE, LINFA, ecc.; per i metodi d'estrazione e analisi dei gas, ved. PARTE TERZA).

2. — *ASSORBIMENTO, ASSIMILAZIONE E METABOLISMO DEI SALI MINERALI.*

§ 17. **Eventuali modificazioni che subiscono le sostanze minerali nel tubo digerente.** — Le sostanze minerali non subiscono modificazioni notevoli nel tubo digerente, almeno quella parte che viene introdotta in forma di sali liberi. Pure, bisogna ammettere che molti di essi, in presenza dell'H Cl del succo gastrico, vengano trasformati in cloruri, per poi essere assorbiti.

Anche nell'intestino possono verificarsi doppie decomposizioni o speciali combinazioni di sostanze minerali; così, p. es., per la presenza di H^2S possono formarsi dei sulfuri, che poi sono destinati ad essere eliminati. I sali terrosi degli alimenti sono anche sciolti dall'acido libero del succo gastrico, e così solamente possono essere assorbiti (TIEDEMANN e GMELIN). Anche l'acido lattico, che si trova nello stomaco specialmente nel primo periodo della digestione, contribuisce, secondo FRERICHS, a sciogliere il ferro sia metallico, sia allo stato di ossido. Il contenuto intestinale, intanto che ha reazione acida, contribuisce pure a sciogliere i sali terrosi e i sali dell'ossido di ferro; ma, come esso viene neutralizzato dalla bile e più dal succo enterico, tale sua capacità cessa. Quando nel tubo digerente si ha un'abbondante formazione di acido lattico, può essere disciolta una notevole quantità di calce: ciò accade spesso negli erbivori. La solubilità delle materie saline nel tubo digerente è poi favorita dall'alta temperatura che ivi regna, e dalla presenza di sostanze proteiche.

I sali dei metalli pesanti, introdotti nel tubo digerente, si combinano con le sostanze proteiche che trovano disponibili: certa è, p. es., la formazione di albuminato di ferro nell'intestino (CERVELLO).

Non sappiamo se esistano particolari esperienze istituite allo scopo di vedere quali modificazioni subiscono nel tubo digerente le sostanze minerali che vengono introdotte con gli alimenti già allo stato di combinazione con le sostanze proteiche, e che costituiscono la parte principale dell'alimentazione minerale, e per alcuni sali, anche esclusiva.

Le molecole proteiche, per l'azione degli enzimi proteolitici, si scindono in complessi atomici sempre più semplici, i quali hanno caratteri differenti dalle prime. Ora è probabile che, non solamente i costituenti salini delle sostanze proteiche primitive seguano i gruppi molecolari nel loro distaccarsi dalle enormi molecole originali, ma che questi gruppi molecolari più semplici siano dotati di peculiari affinità chimiche, per cui siano in grado di fissare nuove molecole saline trovantisi libere nel contenuto del tubo digerente.

Questo si sa con una certa sicurezza, che tale combinazione avviene fra i prodotti della digestione peptica e l'HCl, e tanto più quanto i prodotti sono più semplici. Che maraviglia che lo stesso si verifichi pei sali neutri, e più ancora per altri aventi ancora valenze libere?

Il fatto che l'aggiunta dei sali minerali agli alimenti demineralizzati non vale a mantenere in vita l'animale da questi nutrito, da una parte proverebbe che i sali minerali seguono, come dicemmo, le molecole proteiche nella loro scomposizione idrolitica, e non le abbandonano, e dall'altra parte dimostra che la combinazione salino-proteica non si fa agevolmente per via artificiale e per tutti i sali e

completamente, come sarebbe necessario per sostituire l'alimentazione naturale, in cui quelle combinazioni sono preformate.

Può anche ammettersi che combinazioni semplici, come quella di un albumoso con H Cl, o di un'altra proteina qualunque con Na Cl, abbiano luogo nel tubo digerente; ma abbiamo visto che l'aggiunta del solo Na Cl agli alimenti demineralizzati non è sufficiente a mantenere in vita l'animale. Combinazioni più elevate, come quelle del Ca con la caseina, del Fe nell'ematogene, del K nelle citoglobuline, ecc., probabilmente non si fanno che sotto l'influenza del protoplasma vivente: ciò spiegherebbe l'insufficienza dell'aggiunta dei sali liberi agli alimenti demineralizzati.

§ 18. **Assorbimento delle sostanze minerali.** — Tutti oramai sono d'accordo nell'ammettere che **i sali penetrano nell'organismo per i vasi sanguigni del villo intestinale**, che sono i primi ad essere incontrati dalla corrente dell'assorbimento. Che una parte dei sali sia assorbita in forma di combinazione proteica, non è difficile ammettere. sapendosi che anche i prodotti della digestione peptica passano nel sangue dei vasi gastro-intestinali.

Ma per alcuni sali ha una speciale importanza la presenza di sostanze proteiche nel tubo digerente. Come sarebbero, infatti, assorbiti i fosfati terrosi insolubili in acqua avente reazione alcalina, se non vi fossero le albumine e i peptoni, che ne agevolano la solubilità? Nelle stesse condizioni si troverebbero alcune combinazioni proteiche di sali di metalli pesanti, che sono solubili solo in presenza di un eccesso di sostanze proteiche. E finalmente si rammenti che gli idrati di ossidi di metalli pesanti (Cu, Fe, ecc.) si sciolgono anche in liquidi contenenti corpi proteici disciolti.

Ciò che è detto per i sali minerali, vale in parte anche per l'acqua che costituisce il loro solvente. **Essa passa nel sangue.**

Nello stomaco l'acqua non è assorbita in quantità considerevole (v. MERING, GLEY e RONDEAU), mentre è l'intestino il luogo del suo completo assorbimento.

Per seguire l'assorbimento dell'acqua e delle sostanze solubili in acqua, s'è riempito un'ansa intestinale di una soluzione di bleu di metilene e poi s'è studiata microscopicamente la mucosa. S'è trovato che il colore era penetrato tanto nell'interno delle cellule epiteliali quanto nella sostanza che le cementa, ciò che, secondo HEIDENHAIN, starebbe ad indicare che l'assorbimento avviene per la via degli elementi cellulari e degli spazi intercellulari.

In generale, possiamo dire che i fatti osservati finora non permettono di ammettere che l'assorbimento dei sali minerali e dell'acqua, in fine delle soluzioni acquose di corpi cristalloidi, si faccia secondo le leggi dell'osmosi e della diffusione; ma che necessariamente vi debbono intervenire speciali proprietà assorbenti delle cellule

epiteliali. Infatti i sali minerali (salvo alcune eccezioni) sono corpi con cui si possono preparare liquidi isotonici. GUMILEWSKI e ROEHMANN, nel laboratorio di HEIDENHAIN, introducendo soluzioni di diversi sali e sostanze nutritive in fistole intestinali preparate secondo il metodo di THIRY-VELLA, poterono constatare che le sostanze erano assorbite affatto indipendentemente dall'acqua, e che la rapidità dell'assorbimento non è in relazione con la diffusibilità delle diverse sostanze, poichè mentre il Na^2SO^4 si diffonde 15 volte più rapidamente del saccarosio, questo è assorbito 10 volte più presto di quel sale dall'intestino.

Non bisogna poi dimenticare che l'assorbimento di sostanze solubili in acqua dipende anche dalla concentrazione della soluzione, e che secondo BRANDL esiste a questo riguardo una notevole differenza fra lo stomaco e l'intestino, poichè le soluzioni più concentrate sono assorbite meglio dallo stomaco, quelle più diluite meglio dall'intestino. Così, p. es., una soluzione di saccarosio è completamente assorbita dall'intestino quando ha una concentrazione eguale a 0,5 %. Elevandosi la concentrazione, l'assorbimento diminuisce, e ad una concentrazione eguale a 5 % si verificano dei disturbi intestinali. Invece nello stomaco l'assorbimento cominciava appena con soluzioni 5 % e aumentava fino a soluzioni 20 %.

Le cellule dell'epitelio gastro-intestinale presentano dunque delle proprietà selettive anche nell'assorbimento delle sostanze minerali o, in generale, di semplici soluzioni acquose di corpi cristalloidi. Così TAPPEINER trovò che i sali biliari sono assorbiti dall'ileo, ma non dal duodeno nè dal digiuno; e SUSINI osservò che il ferrocianuro potassico attraversa più facilmente la parete intestinale che la parete gastrica.

Si rammenti che il contenuto intestinale non subisce notevoli modificazioni della sua concentrazione finchè non giunge nel crasso; in altre parole, in questo si verifica l'assorbimento dell'acqua, quasi esclusivamente.

Noi abbiamo parlato altrove dell'assorbimento delle sostanze minerali, in generale. Per quanto riguarda più da vicino l'assorbimento del ferro, abbiamo detto che non solamente i suoi composti organici (BUNGE), ma anche i suoi sali inorganici sono facilmente assorbiti. Ora questo assorbimento avverrebbe per opera specialmente delle cellule epiteliali della mucosa intestinale (KUNKEL, MACALLUM, HALL, HOCHHAUS e QUINCKE, ecc.), le quali poi lo cederebbero in parte agli amebociti e in parte al plasma dei capillari sanguigni, mentre solo una piccola parte passerebbe nel dotto toracico (GAULE). La parte che spetta agli amebociti e quella che spetta al plasma nel trasporto del ferro assorbito a traverso l'organismo sembrano essere diverse a seconda degli animali, a giudicare dalle ricerche di CARAZZI, che

ha trovato nelle ostriche prevalente la prima. Certo è che il sale di ferro, assorbito in forma di soluzione, comparisce in forma di minutissimi granuli nell'interno delle cellule epiteliali, poi in granulazioni più grossolane nell'interno degli amebociti che migrano per gli spazi linfatici della mucosa intestinale, e poi da per tutto. Lo stato granulare indica già una modificazione, forse una speciale combinazione del ferro, avvenuta per l'attività del protoplasma cellulare; quivi, forse, si compiono i primi processi per cui il metallo viene incorporato nella molecola proteica, poichè in queste prime stazioni del suo percorso esso è ancora microchimicamente dimostrabile (HOCHHAUS e QUINCKE, CARAZZI). Per quanto riguarda l'assorbimento dei sali di calcio e di stronzio, sappiamo dalle ricerche di RAUDNITZ ch'esso ha luogo principalmente nel duodeno. Ma un piccolo eccesso di questi sali determina attivi movimenti peristaltici dell'intestino, ciò che è spiegato dal fatto che i detti sali provocano forti contrazioni e contratture degli elementi muscolari lisci.

§ 19. — I diversi tessuti del corpo presentano **speciali affinità per i diversi sali,** e questa parte solamente delle materie minerali, che si trova nei tessuti va considerata, secondo MOLESCHOTT, come parte contribuente alla loro formazione, mentre quei sali che si trovano nei succhi che bagnano gli elementi morfologici appartengono al plasma sanguigno, o meglio linfatico, e non sono costituenti propri dei medesimi. Già LIEBIG additò alcune di queste particolari affinità, p. es. quella degli elementi muscolari per il cloruro e il fosfato potassico: LEHMANN notò l'affinità del sostrato organico delle cartilagini per il cloruro sodico, FROMHERZ e GUGGERT quella delle cartilagini stesse per il fosfato sodico; SCHULTZE trovò una quantità considerevole di fosfato sodico nella parete delle arterie, e LEHMANN osservò che il fosfato sodio-ammoniaco e il solfato sodico accompagnano sempre la globulina della lente del cristallino.

Altro non sappiamo sull'assimilazione delle sostanze minerali. Per il ferro, possiamo dire che in qualsiasi forma giunga nell'organismo, si fissa sempre in composti organici più o meno complessi, i più alti dei quali sono l'ematogene e l'emoglobina. Questi composti, sui quali avremo occasione di tornare in seguito, si depositano negli organi (milza, fegato), e servono all'incessante ricostruzione della emoglobina, che rappresenta l'unico composto organico di ferro propriamente attivo, mentre gli altri non sono che composti di passaggio, in cui il ferro si combina per penetrare nell'organismo o per escirne. Che il ferro si trovi nei succhi e nei tessuti in varie forme di combinazione è dimostrato dal fatto che esso in alcune è più, in altre è meno stabilmente combinato, come risulta dalla possibilità di scoprirlo coi comuni reattivi propri (ferrociamuro potassico e acido cloridrico, solfocianuro potassico, solfuro ammonico, ecc.) solo in alcune

di queste sue combinazioni, senza bisogno di scomporle precedentemente.

Noi incontreremo queste combinazioni del ferro nelle cellule spleniche (per lo più albuminati), nel fegato (epatine, albuminati), e ne riparleremo anche a proposito delle SOSTANZE PROTEICHE.

L'eliminazione del ferro avviene, abbiamo detto, per la bile e per la mucosa del ceco e del colon; ma sembra che le diverse parti del tubo digerente si comportino diversamente in ordine all'escrezione del ferro. È stato affermato che questa ha luogo per opera di leucociti emigranti e per lo sfaldamento di cellule epiteliali della mucosa intestinale contenenti granuli ferruginosi. Non è però escluso che anche i reni, specialmente in alcuni animali, partecipino all'eliminazione del ferro (HALL, HOCHHAUS, QUINCKE).

L'eliminazione del ferro non s'arresta nemmeno, nell'assoluta sottrazione dei suoi sali all'alimentazione. Ma ora che sappiamo come non sia difficile il suo assorbimento, non ci meraviglieremo ch'esso soggiaccia alla legge generale cui obbediscono tutte le altre sostanze, quella cioè di abbandonare l'organismo dopo avervi compiuto il proprio ciclo metallico.

Dell'eliminazione degli altri composti minerali abbiamo detto sopra quanto si sa di più certo.

§ 20. — Se ci siamo fermati a trattare dei sali minerali più diffusamente di quello che ordinariamente si usi fare, egli è perchè tale argomento ha un'altissima importanza e presenta tuttora un gran numero di lacune. In sostanza quello che sappiamo di positivo si riduce a questa proposizione, che voglio esprimere con le parole di MOLESCHOTT (1851), che cioè « **una necessaria legge di affinità lega nei tessuti i singoli corpi organici con determinate sostanze minerali** ». E il MOLESCHOTT eccitava allo studio di questo argomento dicendo: « Qui, come nel regno vegetale, le materie minerali formatrici dei tessuti debbono essere alla fine sottratte alla dimenticanza, in cui sono state lasciate fino a poco tempo fa, perchè non si seppe vedere nelle ceneri niente altro che una specie di zavorra del sostrato organico dei singoli tessuti ».

Non pare però che le ricerche fatte finora abbiano risoluto intieramente la questione riguardante l'importanza e l'ufficio dei sali minerali, nell'organismo animale.

Bisognerebbe poter stabilire la lista completa degli **alimenti minerali necessari e sufficienti**, mediante saggi di nutrizione con razioni artificialmente costituite per ciascun sale. Ma questo programma non ha trovato la sua completa applicazione che nello studio di alcuni microrganismi, i quali si prestano benissimo per ricerche di tal genere, a causa delle condizioni di loro esistenza. Si può anche tentare un simile studio sopra elementi morfologici liberi dell'organismo

animale, p. e. sopra i globuli rossi del sangue (BOTTAZZI, per quanto riguarda il K ed il Na; ved. SANGUE), benchè questi non posseggano spiccati caratteri cellulari, specialmente riguardo al loro metabolismo. Ma le difficoltà che s'incontrano per gli organismi superiori sono grandissime, e la maggiore è questa: che noi siamo costretti ad usare un'alimentazione minerale quale si può ottenere dall'associazione di alimenti complessi e sui diversi fattori della quale è quasi impossibile agire con qualche precisione.

I. — Bibliografia generale.

(*Trattati ed opere generali da consultarsi*).

(1) 1851. MOLESCHOTT JAC., *Physiologie des Stoffwechsels in Pflanzen und Thieren.* Erlangen, F. Enke.

(2) 1868. KUEHNE W., *Lehrbuch der physiologischen Chemie.* Leipzig.

(3) 1878. GORUP-BESANEZ E. F. v., *Lehrbuch der physiologischen Chemie.* IV. Auflage. Braunschweig, Fr. Vieweg u. Sohn.

(4) 1880. GAMGEE A., *A text-book of the physiological chemistry of the animal body.* London, Macmillan and C°.

(5) 1877-81. HOPPE-SEYLER F., *Physiologische Chemie.* I. II. III. Th. Berlin, A. Hirschwald.

(6) 1882. EBERMEYER E., *Phisiologische Chemie der Pflanzen.* Bd. I. und II. Berlin, J. Springer.

(7) 1885. FICK A., *Die medicinische Physik.* III. Auflage. Braunschweig.

(8) 1875-1887. FRESENIUS R., *Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse, etc.* VI. Auflage. I. II. Bd. Braunschweig, Vieweg u. Sohn.

(9) 1888. BEAUNIS H., *Nouveaux éléments de physiologie humaine, etc.* 3.e édition, Tome I, Paris, J.-B. Baillière.

(10) 1890. NEUBAUER C. e VOGEL J., *Anleitung zur qualitativen und quantitativen Analyse des Harns, etc.* IX. Auflage di H. Huppert e L. Thomas. Wiesbaden, C. W. Kreidel.

(11) 1891. OSTWALD W., *Lehrbuch der allgemeinen Chemie.* I. Bd. *Stöchiometrie.* II. Auflage. Leipzig, W. Engelmann.

(12) 1892. SHERIDAN LEA A., *The chemical basis of the animal body.* London, Macmillan and C.

(13) 1892. GAUTIER A., *Chimie biologique* (T. III del *Cours de Chimie*). Paris, F. Savy.

(14) 1893. HALLIBURTON W. D., *Lehrbuch der chemischen Physiologie und Pathologie.* (Deutsch bearb. von K. Kaiser). Heidelberg, C. Winter.

(15) 1893. NOORDEN C. v., *Lehrbuch der Pathologie des Stoffwechsels f. Aerzte und Studirende.* Berlin, A. Hirschwald.

(16) 1893. OSTWALD W., *Hand-und Hilfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen.* Leipzig, W. Engelmann.

(17) 1893. NERNST W., *Theoretische Chemie vom Standpunkte der Avogadro'schen Regel und der Thermodynamik.* Stuttgart, F. Enke.

(18) 1893. HOPPE-SEYLER F., *Handbuch der physiologisch- und pathologisch- chemischen Analyse für Aerzte und Studirende.* VI. Auflage neu bearbeitet von F. Hoppe-Seyler und H. Thierfelder. Berlin, A. Hirschwald.

(19) 1894. GAUTIER A., *La chimie de la cellule vivante.* Paris, Masson-Gauthier-Villars.

(20) 1894. OSTWALD W., *Die wissenschaftlichen Grundlagen der analytischen Chemie. Elementar dargestellt.* Leipzig, W. Engelmann.

(21) 1894. Fresenius R., *Anleitung zur qualitativen chemischen Analyse, etc.* XVI. Auflage. I. II. Bd. Braunschweig, Vieweg u. Sohn.
(22) 1895. Étard A., *Les nouvelles théories chimiques.* Paris, Masson-Gauthier-Villars.
(23) 1895. Le Dantec F., *La matière vivante.* Paris, Masson ecc.
(24) 1895. Rubner A., *Lehrbuch der Hygiene.* V. Aufl. Berlin.
(25) 1895. Hammarsten O., *Lehrbuch der physiologischen Chemie.* III. Auflage. Wiesbaden, J. F. Bergmann.
(26) 1896. Henneguy F., *Leçons sur la cellule. Morphologie et Reproduction.* Paris, G. Carré.
(27) 1896. Bunge G., *Lehrbuch der physiologischen und pathologischen Chemie.* IV. Auflage. Leipzig, Vogel.
(28) 1896. Le Dantec F., *Théorie nouvelle de la vie.* Paris, F. Alcan.
(29) 1897. Neumeister R., *Lehrbuch der physiologischen Chemie mit Berücksichtigung der path. Verhältnisse,* II. Auflage. Jena, G. Fischer.

II. — Bibliografia degli elementi e delle sostanze inorganiche.

(30) 1868. Riesell, *Ueber die* P^2O^5 *Ausscheidung im Harn bei Einnahme von* $CaCo^3$. Hoppe-Seyler's Med.-chem. Unt., H. III, pag. 319.
(31) 1872. Soborow, *Ueber Kalkausscheidung im Harn.* Centr. med. Wiss., N. 39, pag. 609-612.
(32) 1873. Forster, *Ueber die Bedeutung der Aschenbestandtheile in der Nahrung.* Zeitschr. f. Biol., Bd. IX, pag. 297-380.
(33) 1874. Picot, Compt. rend., pag. 62.
(34) 1878. Perl, *Ueber die Resorption der Kalksalze.* Virchow's Arch., Bd. LXXIV, pag. 54.
(35) 1878. Bertram J., *Ausscheidung der* P^2O^5 *bei den Pflanzenfressern.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XIV, pag. 335-382.
(36) 1878. Hamburger. *Aufnahme und Ausscheidung des Eisens.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, pag. 191-205, e Bd. IV, pag. 248-252, 1880.
(37) 1879. Bunge G., *Ueber das Verhalten der Kalisalze im Blute.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, pag. 63-69.
(38) 1879-80. Kraus G., *Ueber Wasserverteilung in der Pflanzen.* I. u. II. Heft. Halle. (Biol. Centr., Bd. I, pag. 257-261, 1881-82).
(39) 1880. Voit E., *Ueber die Bedeutung des Kalks für den thierischen Organismus.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XVI, pag. 93.
(40) 1880. Gahtgens, *Ueber Ammoniakausscheidung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, pag. 40.
(41) 1881. Cervello V., *Sull'azione fisiologica dei cloruri di ferro.* Arch. per le sc. med., vol. IV, pag. 353-387.
(42) 1882. Lehmann E.. *Zur Wirkung des kohlensauren Kalks und der kohlens. Magnesia.* Berl. Klin. Woch., pag. 320.
(43) 1883. Tereg e Arnold, *Das Verh. der Calciumphosphate im Organismus des Fleischfressers.* Pflüger's Arch., Bd. XXXII, pag. 122-170.
(44) 1884. Lehmann K. B., *Notiz über die Resorption einiger Salze aus dem Darm.* Pflüger's Arch., Bd. XXXIII, pag. 188-193.
(45) 1884. Blake J., *On the connection between physiological action and chemical constitution.* Journ. of Physiol., vol. V, pag. 35-44.
(46) 1884. Blake J., *On the physiol. action of the salts of potassium, rubidium and caesium.* Ibid., pag. 124-126.
(47) 1884. Lauder Brunton T. e Cash J. Th., *Contributions to our knowledge of the connexion between chemical constitution, physiological action and antagonism.* P. I. Philos. Trans. of R. S., pag. 197-244.
(48) 1885. Forster, *Beitr. zur Kenntniss der Kalkresorption.* Arch. f. Hygiene, Bd. II, pag. 385.

(49) 1885. Blake J., *On the supposed catalytic action of insoluble reagents.* Journ. of Physiol., vol. VI, pag. 143-144.
(50) 1885. Bunge G., *Ueber die Assimilation des Eisens.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, pag. 49-59.
(51) 1885. Tammann G., *Ueber die Schicksale des Schwefels beim Keimen der Erbsen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, pag. 414-419.
(52) 1885. Sestini F., *Relazione fra il peso atomico e l'ufficio fisiologico degli elementi chimici.* Gazz. chimica italiana, vol. XV, pag. 107-109.
(53) 1885. Ringer S. e Buxton D. W., *Concerning the action of small quantities of calcium, sodium and potassium salts upon the vitality and function of contractile tissue and cutienlar cells of fishes.* Journ. of Physiol., vol. VI, pag. 154-161.
(54) 1886. Favier A., *L'azote et le phosphore.* Rev. scientif., 10 julliet, pag. 43-50 e 31 julliet, pag. 141-147, ecc.
(55) 1886. Wurster C., *Ueber einige empfindliche Reagentien zum Nachweise minimaler Mengen activen Sauerstoffs.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIX, pag. 3195-3205.
(56) 1886. Raoult F., *La température de congélation des dissolutions.* Rev. scientif., 29 maggio, pag. 673-683.
(57) 1886. Hoppe-Seyler F., *Ueber Activirung von Sauerstoff durch Wasserstoff im Entstehungsmomente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, pag. 35-39.
(58) 1887. Röhmann, *Ueber Secretion und Resorption im Dünndarm.* Pflüger's Arch., Bd. XLI, pag. 411-462.
(59) 1887. Blake J., *Connection between spectra of elements and biological action.* Proc. Physiol. Soc., Journ. of Physiol., vol. VIII, pag. XIII-XIV.
(60) 1887. Wurster C., *Ueber das Verhalten des Wasserstoffsuperoxyds gegen Eiweiss.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XX, pag. 263-267.
(61) 1887. Hoff J. H. van't. *Die Rolle des osm. Druckes in der Analogie zwischen Lösungen und Gasen.* Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. I, pag. 481-515.
(62) 1888. Tammann G., *Ueber das Vorkommen des Fluors in Organismen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, pag. 322-326.
(63) 1888. Schetelig. *Ueber Herstammung und Ausscheidung des Kalks im gesunden und kranken Organismus.* Virchow's Arch., Bd. LXXXII, pag. 437.
(64) 1888. Lewith S., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* I. *Das Verhalten der Eiweisskörper des Blutserums gegen Salze.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIV, pag. 1-16.
(65) 1888. Hofmeister Fr., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* II. *Ueber Regelmässigkeiten in der eiweissfäll. Wirk. der Salze, etc.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIV, pag. 247-260.
(66) 1888. Bokorny Th., *Ueber das angebliche Vorkommen von* H^2O^2 *in Pflanzen- und Thiersäften.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXI, pag. 1100-1102.
(67) 1888. Crookes, *Genesis der Elemente.* Braunschweig.
(68) 1888. Beckmann E., *Molekulargewichtsbestimmung durch Gefrierpunkterniedrigung.* Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. II, pag. 638-645 e 715-743.
(69) 1889. Hofmeister Fr., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* III. *Ueber die Wasserentziehende Wirkung der Salze.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXV, pag. 1-30.
(70) 1889. Limbeck R. v., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* IV. *Ueber die diuretische Wirkung der Salze.* Arch. f. exp. Path. und Pharm., Bd. XXV, pag. 69-86.
(71) 1889. Bunge G., *Ueber die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, pag. 399-406.
(72) 1889. Lukjanow S. M., *Ueber den Gehalt der Organe und Gewebe an Wasser und festen Bestandtheilen bei hungernden und durstenden Tauben im Vergleich mit dem bezüglichen Gehalt bei normalen Tauben.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, pag. 339.

(73) 1890. Hofmeister Fr., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* V. Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXVII, pag, 395.
(74) 1890. Ringer S., *Concerning experiments to test the influence of lime, sodium and potassium salts on the developement of ova and growth of tadpoles.* Journ. of Physiol., vol. XI, pag. 79-84.
(75) 1890. Nasini R., *Analogia tra la materia allo stato gasoso e quella allo stato di soluzione diluita.* Gazz. chimica ital., tom. XX (Estratto).
(76) 1891. Socin, *In welcher Form wird das Eisen resorbirt?* Zeitschr. physiol. Chem , Bd. XV, pag. 93.
(77) 1891. Hoppe-Seyler G., *Ueber die Ausscheidung der Kalksalze.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, pag. 161.
(78) 1891. Hofmeister Fr., *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* VI. *Die Betheiligung gelöster Stoffe an Quellungsvorgängen.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXVIII, pag. 210-238.
(79) 1891. Macallum A. B., *On the demonstration of the presence of iron in chromatin by microchemical methods.* Proc. Roy. Soc. London, vol. L, pag. 277.
(80) 1891. Bunge G., *Weitere Untersuchungen über die Aufnahme des Eisens in den Organismus des Säuglings.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, pag. 173-186.
(81) 1891. Loew O., *Ueber die physiologischen Funktionen der Posphorsäure.* Biol. Centralbl. Bd. XI, pag. 269-281.
(82) 1891. Preyer W., *Die organischen Elemente und ihre Stellung im System.* Vortrag gehalten in der deutsch. chem. Ges. zu Berlin am 23 März, pag. 47, Wiesbaden.
(83) 1891. Wendt G., *Die Entwickelung der Elemente.* Berlin.
(84) 1892. Edkins J. S., *The absorption of water in the alimentary canal.* Journ. of Physiol., vol. XIII, pag. 445-459.
(85) 1892. Raoult F. M. *Gefrierpunkt wässeriger Lösungen von grosser Verdünnung.* Zeischr. f. physikal. Chem., Bd. IX, pag. 343-346.
(86) 1892. Bunge G., *Weitere Untersuchungen* etc. *Nachtrag.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, pag. 63-66.
(87) 1892. Huppert, *Ueber die Bestimmung kleiner Mengen Eisen nach* Hamburger. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, pag. 87-90.
(88) 1892. Dreser H., *Ueber Diurese und ihre Beeinflussung durch pharmakologische Mittel.* Arch. f. exp. Path. und Pharm., Bd. XXIX, pag. 303-319.
(89) 1893. Sanarelli G., *Sulle funzioni reciproche dei sali inorganici nella inanizione minerale e nelle malattie consuntive.* Rivista d'igiene e sanità pubblica, anno IV, pag. 701-726.
(90) 1893. Smith W., *Ueber das Verhalten einiger schwefelhaltigen Verbindungen im Stoffwechsel.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, pag. 457-458.
(91) 1893. Grijns G., *Die Temperatur des in die Niere einströmenden Blutes und des aus ihr abfl. Harnes.* Arch. f. Physiol., pag. 78-101.
(92) 1893. Jones H. C., *Ueber den Gefrierpunkt sehr verdünnter Lösungen.* Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. XI, pag. 110-116.
(93) 1894. Macallum A. B., *On the absorption of iron in the animal body.* Journ. of phys., vol. XVI, pag. 268-359.
(94) 1894. Errera L., *Pourquoi les éléments de la matière vivante ont ils des poids atomiques peu élévés?* Malpighia, ann. I, fasc. 1.°.
(95) 1894. Ringer S. e Sainsbury H., *The action of potassium, sodium and calcium salts on Tubifex rivulorum.* Journ. of phys., vol. XVI, pag. 1-9.
(96) 1894. Loomis E. H., Wiedemann's Annal. (N. F.), Bd. LI.
(97) 1895. Locke F. S., *On a supposed action of distilled wateras such on certain animal organisms.* Journ. of physiol., vol. XVIII, pag. 319-331.
(98) 1895. Haldane J. *The action of carbonic oxide on Man.* Journ. of physiol., vol. XVIII, pag. 430-462.
(99) 1895. Ringer S., *Further observations regarding the antagonism between calcium salts an sodium potassium and ammonium salts.* Journ. of physiol., vol. XVIII, pag. 425-429.

(100) 1895. Woltering H. W., *Ueber die Resorbirbarkeit der Eisensalze.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXI, pag. 186-233.
(101) 1895. Macallum A. B., *On the distribution of assimilated iron compounds, other than haemoglobin and haematin, in animal and vegetable cells.* Journal micr. sc., vol. XXXVIII, pag. 175.
(102) 1895. Schlamp A. *Zur Dissociationstheorie der Lösungen.* Dreissigster Bericht der Oberhessisch. Ges. für Natur- und Heilkunde, pag. 24-48.
(103) 1895. Ringer S. e Phear A. G., *The influence of saline media on the tadpole.* Journ. of physiol., vol. XVII, pag. 423-432.
(104) 1895. Leathes J. B. e Starling E. H., *On the absorption of salt solutions from the pleural cavities.* Journ. of physiol., vol. XVIII, pag. 106-116.
(105) 1895. Pugliese A. e Coggi, *Azione del cloruro di sodio sul ricambio materiale dell'uomo.* Rivista d'igiene e san. pubbl., ann. VI.
(106) 1895. Pugliese A., *Azione del cloruro di sodio e di potassio sul ricambio materiale.* Arch. di farm. e terapeut., vol. III, pag. 261-288.
(107) 1896. Baumann E., *Ueber das normale Vorkommen von Jod in Thierkörper.* I. Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXI, pag. 319 330.
(108) 1896. Id., Id., Ibid. II, pag. 481-493.
(109) 1896. Cervello V., *Assorbimento del ferro medicinale e sue trasformazioni chim. nel tubo digestivo.* Arch. di farm. e terap., vol. IV, fasc. 4.°.
(110) 1896. Pugliese A. *Azione del cloruro di sodio e di potassio sul decorso dell'inanizione.* Atti della R. Accad. dei Fisiocritici di Siena (4.ª), vol. VII.
(111) 1897. Coppet (L. C. de). *Ueber einige ältere Bestimmungen des Gefrierpunktes gesättigter Salzlösungen.* Zeitschr. f. physikal. Ch., Bd. XXII. pag. 239-240.
(112) 1897. Baldi D., *Valore del cloruro di sodio sull'assorbimento intestinale dei peptoni.* Arch. di farm. e ter., vol. V, pag. 109-117.
(113) 1897. Stockmann R. e Greig E. D. W., *Ingestion and excretion of iron in health.* Journ. of hhysiol., vol. XXI, pag. 55-57.
(114) 1897. Bottazzi F., *Contributi alla conoscenza dell'importanza fisiologica delle sostanze minerali: I. Intorno allo stato dei sali minerali nei liquidi e nei tessuti (ricerche crioscopiche); II. Sulle combinazioni ferruginose delle sostanze proteiche.* Lo Sperimentale (Archivio di Biologia), anno LI, fasc. 3.°
(115) 1897. Carazzi D., *Contributo all'istologia e alla fisiologia dei lamellibranchi. 2. Ricerche sull'assorbimento del ferro nell'Ostrea edulis.* Monitore zool. ital., anno VIII, pag. 117 119.

CAPITOLO TERZO

Le sostanze organiche.

Gli idrati di carbonio.

1. — *PROPRIETÀ CHIMICHE DEGLI IDRATI DI CARBONIO.*

§ 1. **Generalità.** — Il nome **idrati di carbonio** vorrebbe indicare che queste sostanze contengono H e O nella proporzione di 2 : 1, vale a dire nella stessa proporzione in cui questi elementi sono contenuti dall'acqua (H^2O). Però non solo altre sostanze contengono H e O nella stessa proporzione (acido acetico, acido lattico, ecc.) senza essere propriamente dei carboidrati, ma oramai si conoscono anche zuccheri in cui quel rapporto dell'H all'O non è mantenuto: per esempio, il **rannosio** ($C^6 H^{12} O^5$). Quel nome è dunque ingiustificato, per quanto sempre in uso.

Sono sostanze costituite di C, H ed O, le quali trovansi in gran quantità nelle piante, e solo in piccola quantità negli organismi animali, sia allo stato libero, sia combinate in alcuni proteidi. La molecola degli idrati di carbonio, che più comunemente si trovano negli organismi viventi, contiene sei atomi di C, onde sono detti **exosi**; o un multiplo di sei.

Gli altri idrati di carbonio, contenenti un numero minore o maggiore di atomi di C, possono qui essere appena accennati, perchè non hanno altro interesse fisiologico, oltre quello della possibilità di essere sostituiti ai primi nell'alimentazione. Tali sono il **triosio**, il **tetrosio**, il **pentosio**, l'**eptosio**, l'**octosio**, il **nonosio**, ecc.

In generale, fra gli idrati di C, i composti più bassi possono essere considerati chimicamente come derivati aldeidici o chetonici di alcooli polivalenti, e i composti più alti come sostanze che si formano dai primi per polimerizzazione, con perdita d'H^2O, o, in altre parole, come anidridi di essi.

Nel corpo animale esistono derivati degli idrati di carbonio, contenenti N.

Tabella decima.

Idrati di carbonio	Potere rotatore spec. (α) D	Formola grezza	Peso molecolare	Osservazioni
I. *Monosaccaridi* (Glicosi).				
Arabinosio (pentosio)	+ —	$C^5 H^{10} O^5$	150	I *monosaccaridi* sono solubili in acqua e in alcool, insolubili in etere; hanno sapore dolce; se ne conoscono non meno di 80, di cui 7 sono prodotti naturali. Sono cristallizzabili e diffusibili. Le loro combinazioni con le basi si dicono *saccarati*; le combinazioni col Pb sono insolubili in liquidi contenenti NH^3; l'$H^2 S$ scinde queste ultime combinazioni. Sono tutti isomeri, in parte anche stereoisomeri. Fermentano facilmente. Riducono i sali metallici in soluzioni alcaline. Il laiosio è stato trovato nelle orine diabetiche.
Destrosio	+ 52°,56	$C^6 H^{12} O^6$	180	
Levulosio	— 106°,0	$C^6 H^{12} O^6$	180	
Galattosio	+ 83°,3	$C^6 H^{12} O^6$	180	
Sorbosio	—	—	—	
(Eucalina)	—	—	—	
Mannosio	+ —			
Laiosio	— 26°,07			
II. *Disaccaridi* (Saccarosi).				
Saccarosio	+ 73°,8 (66°,5)	$C^{12} H^{22} O^{11}$	342	Caratteri generali simili a quelli dei monosaccaridi. Molti sono invertiti da speciali fermenti; in ogni modo, riducono i sali metallici solo dopo l'inversione o la scomposizione. Il saccarosio e il maltosio sono isomeri, non polimeri; la differenza delle loro proprietà deve dipendere per ciò dalla diversa orientazione degli atomi nella molecola.
Lattosio	+ 59°,3 (52°,5)		—	
Maltosio	+ 137°,0	$C^{12} H^{22} O^{11}$	342	
Isomaltosio	+			
Melitosio	+			
Melizitosio	+			
Micosio	+			
Sinantrosio				
III. *Polisaccaridi* (Amilosi)				
Amido (insol.)	+ 216°,0	$(C^6 H^{10} O^5)^n$	20000-30000	L'amido comune è insolubile in acqua, e presenta la caratteristica reazione blu con lo I. Il metodo di RAOULT s'è dimostrato insufficiente per l'amido.
Glicogene	+ 196°,63 + 210°	$6(C^6 H^{10} O^5) + H^2 O$	1625	
Destrina (?)	+ 138°,88	$(C^{12} H^{20} O^{10})^6$	1800	
Maltodestrina	+ 171°,5	$C^{12} H^{22} O^{11} (C^{12} H^{20} O^{10})^6$	2286	
Eritrodestrina	+ 196°,50	$14 (C^6 H^{10} O^5) + H^2 O$	—	
Amido (solub.)	—	$5 (C^{12} H^{20} O^{10})^6$	9000	L'inulina è un polimero del levulosio.
Inulina	—	$2 (C^{36} H^{62} O^{31})$	1980	
Gomma vegetale	—	—	—	
Tunicina	—	—	—	

È utile classificare gli idrati di carbonio in **monosaccaridi** (o glicosi), **disaccaridi** (o saccarosi) e **polisaccaridi** (o amilosi). La maggior parte di essi sono sostanze incolori e inodori, neutre, dolciastre, solubili in acqua, pochissimo o punto solubili in alcool assoluto ed etere, ben cristallizzabili. Sono otticamente attivi, e cioè destrogiri (*d*), levogiri (*l*), o indifferenti (*i*) perchè resultanti dall'unione di due saccaridi contrariamente ma egualmente attivi.

Di molti saccaridi sono stati determinati i pesi molecolari col metodo di RAOULT, e si sono avuti resultati soddisfacenti. Ma già prima MUSCULUS e MEYER avevano cercato di calcolare la grandezza relativa delle loro molecole dalle velocità di diffusione dei diversi saccaridi.

Nella precedente tabella si leggono le formole, i pesi molecolari noti e il potere rotatorio specifico di un certo numero di saccaridi, aggruppati secondo l'ordine dianzi detto, non che alcune proprietà fondamentali di essi.

Gli **exosi** possono essere considerati come derivanti dalla mannite, che è un alcool esavalente; essi sarebbero le aldeidi di questo:

$$\begin{array}{c} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ CH^2OH \\ \hline C^6H^{14}O^6 \text{ (mannite)} \end{array} - H^2O = \begin{array}{c} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ CHO \\ \hline C^6H^{12}O^6 \text{ (glicosio)} \end{array}.$$

I **saccarosi** sarebbero polimeri dei glicosi:

$$\underbrace{C^6H^{12}O^6}_{\substack{\text{glicosio} \\ \text{(destrosio)}}} + \underbrace{C^6H^{12}O^6}_{\text{levulosio}} - H^2O = \underbrace{C^{12}H^{22}O^{11}}_{\text{saccarosio}};$$

e la polimerizzazione avverrebbe con simultanea perdita d'acqua; vale a dire i saccarosi sarebbero anidridi dei glicosi (di due molecole).

Anche gli **amilosi** sarebbero anidridi dei glicosi, ma di una sola molecola:

$$C^6H^{12}O^6 - H^2O = C^6H^{10}O^5;$$

ma con la differenza che il composto $C^6H^{10}O^5$ per sè stesso non esiste; non esistono infatti che dei polimeri di $C^6H^{10}O^5$.

Gli idrati di carbonio appartengono propriamente più al regno vegetale che a quello animale; perciò essi saranno trattati qui molto brevemente, e troveranno una descrizione alquanto più diffusa solo quelli che si riscontrano nell'organismo animale o che servono di nutrimento.

A. — Monosaccaridi.

§ 2. Dei monosaccaridi chiamiamo **aldosi** quelli che rappresentano derivati aldeidici, **chetosi** quelli che rappresentano derivati chetonici di alcooli polivalenti. Il comune glicosio è, per esempio, un aldosio, mentre il mannosio è un chetosio. Gli altri gruppi (oltre l'aldeidico o il chetonico) della molecola dei monosaccaridi, sono tutti gruppi alcoolici primari o secondari.

Dei **diosi, triosi** e **tetrosi** non mette conto di parlare.

I **pentosi** ($C^5H^{10}O^5$) sono molto diffusi nel regno vegetale, mentre solo eccezionalmente sono stati trovati negli animali. Questi però sono in grado di assorbire lo **xilosio,** l'**arabinosio,** il **ramnosio,** e servirsene, secondo alcuni, nella formazione del glicogene.

I pentosi sono degli aldosi non fermentescibili; trattati con H^2SO^4 o HCl, dànno furfurol, ma non acido levulinico, e si colorano in rosso con HCl contenente fluoroglucina.

I più importanti fra i pentosi sono: l'**arabinosio** che si ottiene cuocendo la gomma arabica con H^2SO^4 2 %; è cristallizzabile, dolce, destrogiro; fonde a 160° C, mentre il suo osazone fonde a 157°-158° C; e lo **xilosio**, o zucchero di legno, che si ottiene insieme col primo, ma ha un potere rotatore a destra più debole, e fonde a 160° C.

Altri pentosi sono: il ribosio, il ramnosio.

Oltre a quelle accennate, e ad altre che vedremo in seguito, le principali differenze esistenti fra i monosaccaridi si riferiscono alla loro proprietà di fermentare o no. I tetrosi, i pentosi, gli eptosi e gli octosi non sono fermentescibili; **fermentano solamente quelli che hanno un numero di atomi di C pari a 3 o multiplo di 3,** vale a dire il glicerosio, gli exosi e i nonosi. Ma anche in questi ultimi, la possibilità di fermentare non dipende solamente dalla loro struttura, ma anche dalla loro configurazione, come vedremo meglio in seguito.

Finalmente, altre differenze fra gli zuccheri resultano dalle ricerche chimotattiche di Albertoni.

§ 3. Gli **exosi** ($C^6H^{12}O^6$) costituiscono il gruppo più importante dei monosaccaridi, e in generale di tutti gli zuccheri, perchè in exosi si trasformano tutti gli idrati di carbonio prima d'essere assorbiti o utilizzati dall'organismo animale. Di quelli conosciuti, alcuni trovansi in natura (destrosio, levulosio), altri risultano dalla scissione di saccaridi più complessi o da glicosidi, ed altri finalmente sono dei prodotti artificiali, come il gulosio, il talosio, ecc.

Tutti gli aldoexosi hanno la medesima struttura, ma, per il diverso ordinamento dei gruppi atomici, possono esistere 16 zuccheri diversi.

Gli exosi, bolliti con acidi minerali diluiti, dànno acido formico, sostanze uminiche e acido levulinico ($C^5 H^8 O^3$). Alcuni exosi sono **aldosi** (**mannosio, galattosio, gulosio, talosio**), altri **chetosi** (**levulosio, sorbinosio?**). Il più noto rappresentante di questo gruppo è il **destrosio,** detto anche **glicosio, zucchero d'uva,** che, come è noto, trovasi in natura.

La sua struttura fu stabilita principalmente in seguito ai resultati forniti dall'ossidazione e riduzione di esso. La formola moderna lo rappresenta come l'aldeide di un alcool esatomico (la **sorbite**), mentre il mannosio è l'aldeide della mannite, e il galattosio l'aldeide della dulcite. Alla combinazione del gruppo aldeidico con l'alcoolico deve il destrosio le sue speciali proprietà, come la facile ossidabilità nelle reazioni *in vitro* e nell'organismo animale, la facoltà di formare polisaccaridi con i suoi pari, e l'adattabilità alla preparazione di altre sostanze che si opera nell'organismo vivente a spese del suo carbonio (FISCHER).

§ 4. Gli **exosi** (destrosio, mannosio e galattosio) possono essere trasformati, mediante l'H nascente, nelle rispettive **exiti** (**sorbite, mannite, dulcite**). In generale, per mezzo dell'amalgama di sodio si può idrogenare i monosaccaridi e ottenere gli alcooli corrispondenti. (Così LINNEMANN ha ottenuto dallo zucchero invertito la mannite; BOUCHARDAT, dal glicosio anche gli alcooli etilico, isopropilico, esilico e l'acido lattico. Ma dal glicosio non si ottiene mannite (SCHEIBLER, DAFERT, FISCHER e HIRSCHBERG), come dal mannosio e dal levutosio, bensì sorbite (MEUNIER).

Mediante l'idrossilamina si può inoltre trasformare gli exosi nei rispettivi **oximi**; per esempio il glicosio dà il **glicosoximo:**

$$CH^2 OH . (CH OH)^4 . CH : N . OH .$$

Ossidando questi zuccheri con HNO^3, si ottiene dapprima un acido monobasico e poi un acido bibasico; per esempio:

dal glicosio si forma prima acido glicosico: $CH^2 OH . (CH OH)^4 . CO O H$, e poi acido zuccherico: $CO OH . (CH OH)^4 . CO OH$;

dal mannosio, prima acido mannosico e poi acido mannozuccherico;

dal galattosio, prima acido galattosico e poi acido mucico.

Questi acidi, per l'azione dell'H nascente, passano nelle aldeidi corrispondenti (exosi). D'altra parte, scaldati con chinolina, piridina, ecc., passano in acidi stereoisomeri, dai quali per riduzione derivano zuccheri stereoisomeri.

L'acido zuccherico, scaldato 5-6 ore a bagnomaria, si trasforma in **acido zuccherolattonico,** per interna formazione di anidride ($C^6 H^8 O^7$); questo, ridotto in soluzione acquosa, con amalgama di sodio, dà **acido glicoronico** ($C^6 H^{10} O^7$), che si forma anche nell'organismo animale. È

un acido aldeidico, sta di mezzo fra l'acido glicosico e il zuccherico, ed ha la seguente formola di struttura:

$$CO\,OH\,.\,(CH\,OH)^4\,.\,COH\,.$$

È solubile in acqua e in alcool, non in etere, è destrogiro ($\alpha\,D = +19^0$), riduce, come il destrosio, le soluzioni alcaline dei sali metallici. La sua anidride ($C^6\,H^8\,O^6$) cristallizza in aghi incolori. Non fermenta, e in ciò si distingue dal destrosio. Nell'orina comparisce combinato col K : $C^6\,H^9\,O^7\,K$; questo sale potassico dà col cloridrato di fenilidrazina un precipitato cristallino. Il Br trasforma l'acido glicoronico in acido zuccherico.

MANN e TOLLENS hanno trovato che l'acido glicoronico, rispettivamente la sua anidride, bolliti con H Cl, si scindono nel seguente modo:

$$\underbrace{C^6\,H^8\,O^6}_{\text{ac. glicoronico}} = \underbrace{C^5\,H^4\,O^2}_{\text{furfurolo}} + 2\,H^2\,O + CO^2$$

Il **destrosio**, il **mannosio** e il **galattosio** furono detti « isomeri », non ostante le differenze delle loro proprietà. Ma la stereochimica ha dato la ragione di tali differenze nella teoria dell'atomo di C asimmetrico, il cui principio rimonta alla geniale scoperta di PASTEUR sul comportamento diverso alla luce polarizzata dei due acidi tartarici, destro- e levogiro.

Questa teoria ammette che due sostanze isomere, delle quali una ruota a destra e l'altra a sinistra il piano della luce polarizzata, si comportano otticamente e cristallograficamente l'una rispetto all'altra, come la mano destra rispetto alla sinistra, o come un oggetto asimmetrico alla sua immagine in uno specchio. È l'asimmetria della struttura molecolare di una sostanza che determina la sua azione sulla luce polarizzata; e l'inattività di un composto chimico è, invece, determinata dalla sovrapposizione di due parti attive in senso opposto. Ora, sembra che nelle sintesi artificiali di sostanze organiche, naturalmente contenenti un atomo di C asimmetrico, si ottengano sempre sostanze inattive, che sono combinazioni di due sostanze attive in senso contrario sovrapposte.

§ 5. Il **destrosio**, per il suo gruppo aldeidico, è capace di combinarsi con una quantità di altre sostanze organiche, formando i così detti **glicosidi**, molto diffusi nel regno vegetale, come l'amigdalina, la salicina, l'arbutina, l'esculina, la coniferina, la digitalina, la florizina, l'elicina, la saponina, ecc., i quali per l'azione del calore e di acidi minerali diluiti si sdoppiano, mettendo in libertà il glicosio. Si sono ottenuti per sintesi i glicosidi dell'alcool, della glicerina, dell'acido lattico, della resorcina, ecc. Lo studio di questi composti ha dimostrato che non esiste una differenza fondamentale fra i glicosidi e

gli idrati di carbonio più complessi: questi sarebbero, anzi, come a dire, glicosidi dello stesso zucchero.

Il destrosio, per l'azione di HCl forte, si combina con altre molecole di destrosio, formando dei polisaccaridi, per esempio l'isomaltosio. Prolungando l'azione dell'HCl sul destrosio, la sintesi va oltre la formazione dell'isomaltosio, e si formano sostanze più complesse, simili alla destrina.

Il destrosio trovasi nelle frutta, nel mele, nel sangue (in piccola quantità), e in molti altri tessuti, organi e liquidi del corpo, nonchè nell'orina diabetica. Cristallizza da soluzioni acquose in grani bianchi rotondi, da soluzioni alcooliche in prismi trasparenti, anidri. In soluzione alcalina riduce i sali d'Ag, di Bi, di Hg, precipitando il metallo; riduce i sali ramici in ramosi, precipitando l'ossidulo di rame.

§ 6. **Determinazione quantitativa del glicosio.**

1. **Determinazione mediante il liquido di** FEHLING. — Il principio di questo metodo è basato sulla proprietà del glicosio di ridurre, in soluzione alcalina, i sali metallici. Secondo SOXHLET, si ottengono buoni resultati con questo metodo, se si diluisce il liquido di FEHLING cinque volte, se lo zucchero non è contenuto in proporzione maggiore del 0,5-1,0 % nel liquido da esaminare, e se questo liquido è versato tutto in una volta nel liquido di FEHLING.

Per preparare il liquido di FEHLING si procede nel seguente modo:

a) Si fa una soluzione satura a caldo di $CuSO^4$ purissimo, e poi la si raffredda, sempre agitando. La massa cristallina, che si deposita al fondo del vaso, è prima asciugata sopra un filtro, e poi distesa in strato sottile dentro un cristallizzatore tenuto in luogo secco e chiuso. Quando la massa cristallina è affatto secca, se ne pesa una quantità corrispondente esattamente a grammi 34,639 e la si scioglie in un certo volume di H^2O calda; finalmente si aggiunge tanta H^2O da portare il liquido al volume complessivo di 500 cm.^{3}. La soluzione è conservata in una boccia chiusa con tappo di caoutchouc, al buio, ed è bene anche acidificarla con una goccia di H^2SO^4 concentrato. Grande attenzione dev'essere riposta nel far sì che la concentrazione di questa soluzione non si alteri col tempo, ciò che si ottiene scuotendo il liquido nella boccia prima di adoperarlo, ed asciugando bene internamente il collo della medesima dopo averne versato il contenuto, o meglio togliendo questo con una grande pipetta, affinchè il liquido non venga mai a contatto del collo e del tappo.

b) Si sciolgono poi 173 grammi di tartrato sodico-potassico (sal di SEIGNETTE, $KNaC^4H^4O^6$) purissimo cristallizzato in poca acqua, e si aggiungono 50 grammi di NaOH sciolti in 100 cm.^{3} d'H^2O, e si diluisce il liquido sino a raggiungere il volume totale di 500 cm.^{3} Tanto la soluzione di sal di SEIGNETTE, quanto quella di NaOH, deb-

bono essere limpidissime, ciò che si ottiene filtrando la prima e lasciando sedimentare e poi decantando la seconda.

c) Per preparare, al momento in cui serve, il liquido di FEHLING, si mescolano volumi eguali delle soluzioni *a*) e *b*), e propriamente si misurano, per esempio, 25 cm.^{3} della soluzione *a*) mediante un palloncino graduato e si versano in un pallone più grande; poi si misurano 25 cm.^{3} della soluzione *b*) in un altro palloncino graduato, con questa si lava il palloncino in cui è stata misurata la soluzione *a*), e la si versa nel pallone grande, mescolandola con quella ivi già contenuta.

Il liquido di FEHLING, bollito, non deve dare alcun precipitato.

Poichè il potere riduttore del glicosio è diverso secondo la concentrazione della sua soluzione e il grado di diluzione del liquido di FEHLING, è bene eseguire la titolazione nel seguente modo indicato da SOXHLET: 50 cm.^{3} di liquido di FEHLING sono messi a bollire, senza diluirli; quindi vi si aggiunge il liquido contenente il glicosio, anche questo non diluito, a piccole porzioni, finchè il liquido complessivo, dopo l'ebollizione, non sia più colorato in blu. Mediante questo primo saggio si stabilisce approssimativamente il contenuto in zucchero del liquido da esaminare, per poterlo poi diluire tanto che nella prova definitiva esso contenga non più di 0,9-1,1 % di glicosio. Ora si bolliscono altri 50 cm.^{3} di liquido di FEHLING genuino, e vi si aggiunge in una volta tanto liquido contenente zucchero, diluito, che corrisponda alla quantità di zucchero contenuto in quello aggiunto la prima volta senza diluirlo. Si troverà che, depositandosi dopo l'ebollizione (circa 2 minuti) l'ossidulo di rame, lo straterello soprastante limpido o sarà ancora blu o sarà giallo. Nel primo caso, in una terza prova, fatta nello stesso modo, si aggiungerà 1 cm.^{3} di liquido zuccherino più di quello aggiunto nella seconda; mentre se è giallo, se ne aggiungerà 1 cm.^{3} in meno. Si ripetono tante volte queste prove finchè aggiungendo 0,1 cm.^{3} di liquido zuccherino in più e in meno, si otterrà che nel primo caso il miscuglio bollito resti giallo e nel secondo blu. La quantità di liquido zuccherino che sta di mezzo fra queste due differenti di 0,1 cm.^{3} è quella che riduce completamente 50 cm.^{3} di liquido di FEHLING, e che contiene per ciò grammi 0,2375 di glicosio, avendo SOXHLET stabilito che 50 cm.^{3} di liquido di FEHLING non diluito riducono esattamente cm.^{3} 23,75 di una soluzione 1 % di glicosio, bollendo il liquido per due minuti.

Secondo questo metodo di SOXHLET, in altre parole, con una prima prova approssimativa si stabilisce il contenuto del liquido da esaminare in zucchero, e poi lo si diluisce fino a che ne contenga circa 1 % (0,9-1,1 %).

Tenendo, poi, conto della diluzione del liquido zuccherino, si calcola il contenuto in zucchero di esso.

I liquidi vengono sempre versati da burette ben graduate al 0,1 di cm.^{3} Difficile è stabilire se la riduzione è avvenuta completamente o no, vale a dire se il liquido di FEHLING non è più blu, poichè non sempre l'idrato di ossidulo di rame si deposita presto tanto da lasciar limpido uno straterello superiore di liquido, e d'altra parte non si può attendere a lungo che depositi spontaneamente, perchè l'O dell'atmosfera presto trasforma una parte dell'ossidulo in ossido, che si ridiscioglie. Diversi mezzi sono stati escogitati a questo proposito.

Si può filtrare rapidissimamente una piccola porzione del miscuglio entro un piccolo palloncino posto sopra un foglio di carta bianca e, appena visto che le prime gocce sono ancora blu, versarla di nuovo nel pallone grande, e continuare l'aggiunta del liquido zuccherino. (Ciò naturalmente non occorre fare seguendo il metodo di SOXHLET, in cui si sa già prima la quantità di liquido che dev'essere dalla buretta rapidamente e in una sola volta versata nel liquido di FEHLING bollente). È bene per ciò tener pronti parecchi di questi filtri disposti nel modo anzidetto, perchè le prove successive siano fatte con la massima rapidità.

Ovvero, secondo il consiglio di MUNK, si aggiunge al miscuglio un po' di soluzione di $Ca\,Cl^2$ e si bollisce di nuovo. Si forma così un precipitato di tartrato di calcio che trascina seco l'ossidulo di rame.

In generale sono i liquidi contenenti pochissimo glicosio che presentano al massimo grado questa difficoltà, tanto che si sarebbe costretti a rinunziare a titolarli. E allora è conveniente aggiungere a un determinato volume del liquido un determinato volume di soluzione di glicosio, di cui si conosca esattamente il contenuto in zucchero. Per differenza, si ha poi il contenuto in glicosio del liquido da esaminare.

Si può anche bollire il liquido in una capsula di porcellana, per riconoscere più facilmente la scomparsa della colorazione blu: ma la presenza del precipitato può in parte nasconderla.

Secondo il metodo più comunemente in uso, si parte dal principio che grammi 0,05 di glicosio riducono esattamente 10 cm.^{3} di liquido di FEHLING genuino, e si opera nel seguente modo:

Si misurano 10 cm.^{3} di liquido di FEHLING con una pipetta e si versano in un palloncino o in una capsula di porcellana; vi si aggiungono 40 cm.^{3} d'H^2O e si riscalda con piccola fiamma fino all'ebollizione. Nel liquido bollente si fa cadere da una buretta il liquido da esaminarsi, anch'esso diluito empiricamente al punto che non contenga più di 1-1,5 % di glicosio, in piccole porzioni. Tosto si forma un precipitato rosso di ossidulo o giallo di idrato d'ossidulo di rame. Dopo ogni aggiunta di liquido si bolle per 2-3 secondi, e si continua ad aggiungere finchè il colore blu sia completamente

scomparso. Si legge sulla buretta la quantità di liquido fatta cadere. Il calcolo si fa così, p. es.:

Se per ridurre 10 cm.^{3} di liquido di FEHLING sono stati necessari cm.^{3} 6,8 del liquido zuccherino genuino diluito con 9 volumi di H^2O in questi cm.^{3} 6,8 sono contenuti grammi 0,05 di glicosio, in 100 cm.^{3} del liquido diluito sono contenuti

$$\frac{100 \times 0,05}{6,8} = \text{gr. } 0,735 \text{ di glicosio,}$$

e il liquido genuino, non diluito, ne contiene quindi 7,35 %.

In generale, qualunque titolazione dev'essere ripetuta almeno tre volte, e il resultato medio dev'essere ritenuto solo come giusto.

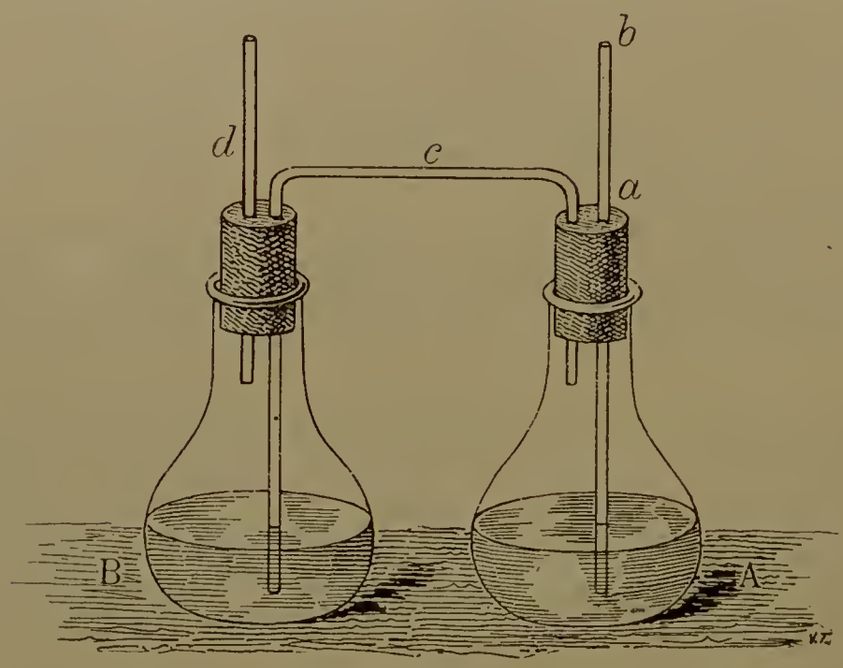


Fig. 9.

2. **Determinazione del glicosio per mezzo della fermentazione.** — Si può eseguire comodamente mediante il piccolo apparato di WILL e FRESENIUS, disegnato nella fig. 9. Nel palloncino A si introduce un po' di lievito di birra attivo, e poi vi si versano 20 cm.^{3} del liquido da esaminarsi. Nel palloncino B si versa dell'acido solforico concentrato. Si mettono i tappi a perfetta chiusura, e si chiude l'estremità libera *b* del tubicino *a*. Si pesa tutto l'apparecchio, e poi lo di lascia per 48 ore alla temperatura di 25°-30° C. L'CO^2 che si sviluppa per la fermentazione in parte va via per *c* e *d*, in parte riempie i due palloncini. Terminata la fermentazione, per aspirazione a traverso *d*, si fa passare una corrente d'aria nell'apparecchio per allontanare le ultime tracce di CO^2. Quindi lo si pesa nuovamente. La differenza fra il peso primitivo dell'apparecchio e il suo peso dopo che la fermentazione è avvenuta, corrisponderebbe all'CO^2 sviluppatosi; questo

peso moltiplicato per 2,045 dà la quantità in peso di glicosio che si trovava nei 20 cm.^{3} di liquido adoperato.

3. **Metodo di** Roberts. — Consiste nel determinare il peso specifico del liquido prima e dopo che è stato sottoposto alla fermentazione, e nel calcolare il glicosio dall'abbassamento della sua densità, sapendosi che un abbassamento di 0,001 corrisponde a un contenuto di glicosio pari a 0,23 %.

Si comprende che l'esattezza del metodo dipende dall'esattezza con cui si determina la densità del liquido. Adoperando un picnometro provvisto di termometro e tubo capillare, o almeno un areometro che permetta di leggere la quarta cifra decimale, si possono avere resultati attendibili pei liquidi contenenti non meno di 4-5 ‰ di glicosio.

4. **Metodo di** Knapp. — La titolazione, secondo questo metodo, si fonda sul fatto che il cianuro di mercurio in soluzione alcalina è ridotto dal glicosio in mercurio metallico. Si prepara il liquido di Knapp, sciogliendo in 1000 cm.^{3} di H^2O grammi 10 di cianuro di mercurio chimicamente puro e secco, e aggiungendovi 100 cm.^{3} di una soluzione di Na OH avente un peso specifico 1,145.

Venti cm.^{3} di questo liquido sono diluiti con 80 cm.^{3} di H^2O, se il liquido da esaminarsi contiene non più di 0,5-1,0 % di glicosio, o con 40-60 cm.^{3} di H^2O se contiene meno di 0,5 % di glicosio, e si fanno bollire in un palloncino. Nel liquido bollente si lascia cadere il liquido contenente il glicosio diluito, a piccole porzioni, da 2 cm.^{3} in principio a 0,1 cm.^{3} in fine, facendo bollire per circa 30″ dopo ciascuna aggiunta. Quando si avvicina la fine della reazione, il liquido comincia a chiarirsi, mentre il mercurio si precipita insieme coi fosfati. Per determinare il momento in cui la reazione è finita, si lascia cadere una goccia, aspirata con una pipetta dagli strati superiori del liquido, sopra un pezzo di carta da filtro svedese affatto bianca, e si tiene la parte bagnata della carta sopra una boccia piena di HCl fumante e poi sopra un'altra contenente una soluzione acquosa forte di H^2S. Si comprende che, se nel liquido si trovano ancora tracce di sale mercurico, la parte bagnata della carta si trasforma in una macchia giallastra. La reazione finale diventa ancora più evidente, se si filtra una parte del liquido, la si acidifica con acido acetico e la si saggia con H^2S.

Il liquido da esaminarsi non deve contenere più di 0,5-1,0 % di glicosio; altrimenti, fattone un dosaggio approssimativo preliminare, lo si diluisce convenientemente.

Sapendosi che 20 cm.^{3} del liquido di Knapp sono ridotti da grammi 0,05 di glicosio, col calcolo si determina facilmente il contenuto in glicosio del liquido in esame.

Il metodo di Knapp presenta i seguenti vantaggi su quello di Fehling:

a) la titolazione può essere eseguita anche a luce artificiale;

b) si può usare anche quando il liquido da esaminare contiene pochissimo glicosio;

c) è di più facile esecuzione;

d) il reattivo di KNAPP si può conservare lungo tempo, senza alterarsi (WORM MÜLLER e i suoi discepoli, OTTO).

Non tutti però sono d'accordo sul valore di questo metodo di titolazione.

5. **Determinazione del glicosio per mezzo del polarimetro.** — Il liquido dev'essere chiaro, e non deve contenere alcuna sostanza, all'infuori del glicosio, che agisca sulla luce polarizzata, e non molto pigmento.

Il liquido chiaro, o reso chiaro mediante filtrazione a traverso il carbone animale, o la soluzione di destrosio lasciata a sè per 24 ore o bollita (allo scopo di eliminare la birotazione) e poi filtrata, sono messi nel tubo orizzontale dell'apparecchio di LAURENT o di WILD ed esaminati alla luce del sodio.

Fatta la lettura del grado di rotazione, il calcolo si eseguisce facilmente, sapendosi che

$$1^\circ \text{ di rotazione} = \frac{1,8961}{l} \text{ gr.}$$

di destrosio sciolto in 100 cm.^{3} di acqua, e che adoperando il tubo d'osservazione in uso della lunghezza di 2 decimetri,

$$1^\circ \text{ di rotazione} = 0,948 \text{ gr.}$$

di destrosio sciolto in 100 cm.^{3} di acqua.

Infatti, poichè per una soluzione 10 %

$$(\alpha)\, D = 52,74,$$

si ha

$$52,74 = \frac{1^\circ \times 100}{2 \times x}; \qquad x = \frac{1 \times 100}{52,74 \times 2} = 0,948 \text{ gr.}$$

Se si adopera un apparecchio SOLEIL-SCHEIBLER, o uno SCHMIDT-HAENSCH, poichè le divisioni della scala di questi apparati indicano una rotazione 0,346 volte minore, bisogna moltiplicare per 0.346 i numeri su detti, e si ha:

$$1^\circ \text{ di questi apparecchi} = \frac{0,656}{l} \text{ gr.}$$

di destrosio %, e per il tubo di 2 decimetri

$$1^\circ \text{ di rotazione} = 0,328 \text{ gr.}$$

di destrosio %

Se si tratta di liquidi aventi una concentrazione superiore, bisogna tener conto della modificazione che ne subisce il potere specifico di rotazione, la quale è indicata dalle tabelle di LANDOLT.

(Per il principio generale della **polarizzazione** e per la tecnica delle determinazioni polarimetriche, ved. la PARTE TERZA).

§ 7. **Reazioni del destrosio.** — 1. **Reazione di Trommer.** — Due gocce di soluzione 2 % di $CuSO^4$ e un eccesso di KOH si aggiungono alla soluzione di destrosio: si ha un precipitato di $Cu(OH)^2$ che si scioglie in presenza dello zucchero, perchè questo come altre sostanze organiche (proteine, glicerina, acido tartarico, ecc.) forma con l'ossido di rame combinazioni (SALKOWSKI) solubili in alcali, e colora il liquido in blu intenso. Scaldando a circa 70° C, comparisce un precipitato rosso di ossidulo di rame o d'idrato d'ossido di rame. La riduzione è dovuta agli acidi glicinico e melassenico, avidi d'O.

2. **Reazione di Fehling.** -- Il principio è il medesimo di quello della reazione precedente. Si può adoperare questa reazione per la determinazione quantitativa dello zucchero (ved. sopra).

3. **Reazione di Böttger-Almén (Nylander).** — Si compone il reattivo omonimo, sciogliendo gr. 5,0 di nitrato basico di bismuto e gr. 5,0 di acido tartarico in cc. 30 d'H^2O, aggiungendo lentamente un po' di NaOH forte e agitando fino ad ottenere una soluzione limpida. Se si mescola a una piccola quantità di questo reattivo un po' di liquido contenente del destrosio, e si fa bollire, si forma un precipitato nero di bismuto metallico.

4. **Reazione col $AgNO^3$.** — Si mescola una piccola quantità di soluzione concentrata di $AgNO^3$ con un eccesso di NH^3, vi si aggiunge la soluzione di destrosio, e si fa bollire. Tosto si forma al fondo della provetta uno specchio di Ag metallico.

L'aldeide e l'acido tartarico dànno la stessa reazione.

Le dette reazioni sono dovute al fatto che i gruppi aldeidico o chetonico contenuti in questi zuccheri sono facilmente ossidabili.

Quando il liquido che si esamina contiene poco zucchero, la reazione caratteristica corrispondente non avviene che dopo un certo tempo, magari quando il liquido comincia a raffreddarsi.

In generale è necessario liberare i liquidi che si esaminano dalla maggior parte delle rimanenti sostanze organiche, che essi contengono in soluzione: sostanze proteiche, pigmenti, ecc. Ma sarà più conveniente rammentare al lettore i vari accorgimenti tecnici che si mettono in opera a questo scopo, quando tratteremo in modo speciale dell'esame del sangue, dell'orina, ecc.

5. **Reazione di Moore.** — Scaldando una soluzione di destrosio con KOH, il liquido si colora prima in giallo, e poi all'aria in bruno, per la formazione degli acidi glucinico, melassenico e levulinico, che è un acido chetonico: $CH^3.CO.CH^2.CH^2.COOH$.

6. **Reazione di Johnson.** — L'acido picrico in soluzione satura, aggiunto a gocce a una soluzione di destrosio alcalinizzata con KOH, la colora in rosso bruno, scaldando.

7. **Reazione con l'indigo.** — Si rende debolmente blu con indigo-carminio una soluzione di destrosio, si alcalinizza leggermente con $Na^2 CO^3$, e si bollisce: il liquido diventa giallo e poi violetto, e scuotendolo all'aria ritorna blu.

8. **Fermentazione.** — Il lievito di birra fa fermentare una soluzione di destrosio alla temperatura di 38°-40° C., con sviluppo di CO^2, che si può raccogliere entro un cilindro rovesciato sul mercurio. Nel liquido fermentato si può poi dimostrare la presenza dell'alcool etilico (di glicerina e di acido succinico) (ved. FERMENTI e FERMENTAZIONE).

9. **Reazione con la fenilidrazina.** — Si aggiunge al liquido contenente zucchero due parti di fenilidrazina e quattro parti di acetato sodico (o direttamente dell'acetato di fenilidrazina), e si riscalda per 20 minuti — 1 ora a bagnomaria. Si forma del **fenilglicosazone,** che precipita in aghi gialli fini caratteristici (che possono esser cercati al microscopio nel liquido, quando sono molto scarsi), o amorfo. In questo caso, si scioglie il precipitato amorfo in alcool caldo, si filtra, si aggiunge dell'acqua al filtrato, donde col raffreddamento si separano i cristalli di fenilglicosazone. La reazione, comune a tutte le aldeidi e ai chetoni, è la seguente:

$$1)\quad \underbrace{CH^2OH.(CHOH)^3.CHOH.CHO}_{\text{(destrosio)}} + \underbrace{H^2N.NHC^6H^5}_{\text{(fenilidrazina)}}$$
$$= \underbrace{CH^2OH.(CHOH)^3.CHOH.CH:N.NH.C^6H^5}_{\text{(fenilglicosidrazone)}} + H^2O$$

$$2)\quad CH^2OH.(CHOH)^3.CHOH.CH:N.NH.C^6H^5 + H^2N.NH.C^6H^5$$
$$= \underbrace{CH^2OH.(CHOH)^3.\underset{\underset{N.NHC^6H^5}{\|}}{C}.CH:N.NH.C^6H^5}_{\text{(fenilglicosazone)}} + H^2O + H^2$$

L'H^2 intanto non diventa libero, ma agisce sopra un'altra molecola di fenilidrazina e la scinde:

$$\underbrace{NH^2NH.C^6H^5 + H^2}_{\text{(fenilidrazina)}} = \underbrace{NH^2.C^6H^5}_{\text{(anilina)}} + NH^3$$

Gli **osazoni,** composti cristallini giallastri, differiscono gli uni dagli altri per il punto di fusione, la solubilità e il comportamento ottico: onde hanno acquistato una grande importanza per distinguere le varie specie di zuccheri. Essi inoltre servono a separare gli zuccheri da soluzioni in cui si trovano insieme con altre sostanze.

Gli osazoni scomposti a lieve calore con H Cl fumante, dànno cloridrato di fenilidrazina e i così detti **osoni**, che sono delle chetoaldeidi:

$$\underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH.(CHOH)^3.C.CH:N.NH.C^6H^5 \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad \| \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\quad N.NH.C^6H^5 \end{array}}_{\text{(fenilglicosazone)}} + 2H^2O + 2HCl$$

$$= \underbrace{2C^6H^5.NH.NH^2.HCl}_{\text{(cloridrato di fenilidrazina)}} + \underbrace{CH^2OH.(CHOH)^3.CO.CHO.}_{\text{(glicosone)}}$$

Dagli osoni, per riduzione con zinco e acido acetico, si ottengono chetosi:

$$CH^2OH.(CHOH)^3.CO.CHO + 2H$$
$$= CH^2OH.(CHOH)^3.CO.CH^2OH.$$

§ 8. **Sintesi degli zuccheri.** — In diversi modi si possono ottenere artificialmente gli zuccheri: 1.° mediante ossidazione dei corrispondenti alcooli polivalenti; 2.° per riduzione dei corrispondenti ossiacidi monobasici; 3.° per decomposizione degli osazoni e riduzione degli osoni; 4.° per diretta riduzione degli osazoni e trattamento dell'osamina che si forma con HNO^2; 5.° per sintesi da composti contenenti un minor numero di atomi di C.

Dobbiamo, però, fermarci un momento sopra questa **sintesi dei monosaccaridi.**

Il primo tentativo di ottenere per sintesi gli zuccheri fu fatto da BUTLERON; ma la via indicata da questi fu subito abbandonata.

La parentela esistente fra glicerina e glicosio fu invece utilizzata con successo. Dalla glicerina (anche se ottenuta per sintesi) ossidata si ottiene un **triosio,** $C^3H^6O^3$:

$$\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \end{array} \quad \text{ovvero} \quad \begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ CO \\ | \\ CH^2OH. \end{array}$$

Questo **glicerosio,** che ha le proprietà tipiche dei glicosi, compresa quella della fermentazione alcoolica, sotto l'azione di alcali diluiti subisce una polimerizzazione, per cui si forma uno zucchero a 6 atomi di C, detto **acrosio:**

$$C^3H^6O^3 + C^3H^6O^3 = C^6H^{12}O^6,$$

che ha la più grande somiglianza con gli zuccheri naturali, ma al quale manca però da prima la proprietà di agire sulla luce polarizzata, proprietà che acquista in seguito facilmente, trasformandosi in levulosio o mannosio o destrosio.

cordiamo qui di passaggio che possediamo, in generale, tre mezzi per mare delle sostanze otticamente inattive in altre attive: la fermenta- la cernita meccanica dei cristalli e la cristallizzazione frazionata; ma ultimi possono usarsi solamente per sostanze ben cristallizzabili.

Gli **acrosi** sono stati anche ottenuti facendo agire la $Ba(OH)^2$ sul bromuro di acroleina:

$$2\,CH^2Br\,.\,CHBr\,.\,CHO + 2\,Ba(OH)^2$$
$$= 2\,BaBr^2 + C^6H^{12}O^6.$$

Riducendo con amalgama di sodio e acqua questo acrosio, si ottiene l'alcool corrispondente, detto **acrite**.

Ma la sintesi può essere spinta più oltre, sino ad ottenere composti con un numero di atomi maggiore di sei, grazie alla possibilità di legare un atomo di C mediante l'azione dell'acido cianidrico. Dalla combinazione di questo con lo zucchero nasce da prima un acido, contenente un atomo di C in più, dal quale si ottiene lo zucchero corrispondente per mezzo dell'H nascente. La stessa reazione con l'HCN si ripete, e così si è giunti ad ottenere la combinazione di nove atomi di C. Oltre i **nonosi**, finora non sono stati ottenuti altri monosaccaridi, per sintesi; ma non si vede l'impossibilità d'andare oltre. Ecco un esempio:

1) $$\underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ COH \end{array}}_{\text{(exosio)}} + HCN = \underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ CH\ OH \\ | \\ CN \end{array}}_{\text{(glicocianidrina)}};$$

2) $$\underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ CH\ OH \\ | \\ CN \end{array}}_{\text{(glicocianidrina)}} + 2H^2O = \underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ (CH\ OH)^4 \\ | \\ CH\ OH \\ | \\ CO\,.\,OH \end{array}}_{\text{(acido eptosico)}} + NH^3;$$

3) dal lattone di quest'acido, mediante l'H nascente, si ottiene l'**eptosio**. E così via.

Da questi nuovi concetti sulla struttura degli zuccheri scaturisce che dev'esser possibile l'esistenza di un saccaride a 2 atomi di C; e infatti è stato ottenuto dal glicol, di cui rappresenta l'aldeide:

$$\underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ CH^2OH \end{array}}_{\text{(glicol)}} - H^2O = \underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ CHO \end{array}}_{\text{(diosio)}}.$$

Questo **diosio**, polimerizzato dagli alcali, dà un **tetrosio**, che ancora mancava nella serie.

Finalmente dall'azione delle basi sopra la formaldeide s'è ottenuto, per condensazione di questa, un exosio, che fu detto **formosio,** ma che non è capace di fermentare.

Recentemente è riescita anche la sintesi del glicosio, ossidando con acqua di bromo il mannosio destrogiro (naturale o artificiale), per cui si forma acido mannosico, e scaldando questo con chinolina a 140° C, per cui passa nell'isomero acido glicosico destrogiro, che, ridotto con H nascente, dà glicosio identico a quello naturale.

Solo il galattosio non è stato ancora ottenuto per sintesi.

§ 9. — Il **levulosio,** in luogo del gruppo aldeidico, contiene un gruppo chetonico (KILIANI, 1886); è dunque il chetone della mannite, ed ha la seguente formola:

$$\begin{array}{c} CH^2\,OH \\ | \\ (CH\ \ OH)^3 \\ | \\ CO \\ | \\ CH^2\,OH\,. \end{array}$$

Ciò ha importanza per la fisiologia del ricambio materiale, perchè la presenza di questo gruppo genera una maggiore ossidabilità della sostanza: onde il levulosio fu consigliato nel diabete. Il levulosio si combina con l'HCN, producendo una sostanza innocua, avente i caratteri degli acidi delle frutta (KILIANI). Il levulosio è contenuto nel saccarosio nella stessa proporzione del destrosio. Si trova in piccolissima quantità nel sangue, nell'orina, nei muscoli; cristallizza da soluzioni purissime in cristalli aciculari lunghi non igroscopici. La sua combinazione col Ca è solida, mentre quella del destrosio è liquida: dalla prima si può ottenere il levulosio puro, sottraendo il Ca con acido ossalico.

Le **reazioni** sono simili a quelle proprie del destrosio.

La sua soluzione acquosa è levogira, fermenta e dà un osazone simile a quello del destrosio. Si ottiene facilmente scomponendo a caldo l'inulina con acqua leggermente acidulata.

§ 10. — Il **galattosio** deriva dallo zucchero di latte e da altri idrati di carbonio, per decomposizione idrolitica, e anche dai cerebrosidi, che sono dei glicosidi azotati contenuti nei protagoni. Cristallizza in aghi o pagliette che fondono a 168° C; è meno solubile in acqua del destrosio, è destrogiro, fermenta, riduce più debolmente o lentamente del destrosio il liquido di FEHLING (10 cm.³ di reattivo di FEHLING corrispondono a grammi 0,0511 di galattosio in soluzione 1 % (SOXHLET)). Il suo osazone fonde a 193° C.

Altri exosi, sui quali non possiamo soffermarci, sono: i **gulosi,** i **mannosi** e **seminosi,** che si formano per ossidazione della mannite insieme coi **fruttosi,**

i **sorbinosi** o **sorbosi** dalla sorbite, i **talosi**, ottenuti artificialmente per riduzione dell'acido talonico, e finalmente il **laiosio** trovato da LEO nell'orina diabetica, che è levogiro, non fermenta, non ha sapore dolce, ha un piccolo potere riduttore, ma si combina con la fenilidrazina.

§ 11. — Dei derivati più prossimi dei monosaccaridi ha speciale importanza fisiologica l'amidoglicosio o glicosamina: $C^6 H^{11} O^5 . NH^2$, che si forma nella scomposizione della chitina e della condroitina, e che è trasformata in destrosio dall'HNO^2:

$$\underbrace{C^6 H^{11} O^5 . NH^2}_{\text{(glicosamina)}} + HNO^2 = \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(glicosio)}} + N^2 + H^2 O.$$

Tutti i monosaccaridi dànno glicosamine corrispondenti, quando i loro osazoni sono trattati con mezzi riducenti:

$$\underbrace{C^6 H^{10} O^4 (N^2 H . C^6 H^5)^2}_{\text{(fenilglicosazone)}} + H^2 O + 2H^2 = \underbrace{C^6 H^{11} O^5 . NH^2}_{\text{(glicosamina)}} +$$
$$+ \underbrace{NH^2 . NH . C^6 H^5}_{\text{(fenilidrazina)}} + \underbrace{NH^2 . C^6 H^5}_{\text{(anilina)}} .$$

B. DISACCARIDI.

§ 12. **Generalità.** — I **disaccaridi** o **exobiosi** resultano dall'unione di due molecole di exosio, con perdita di una molecola d'acqua:

$$C^6 H^{12} O^6 + C^6 H^{12} O^6 - H^2 O = C^{12} H^{22} O^{11} .$$

Si trovano in parte in natura (**saccarosio, lattosio**) o si formano per decomposizione idrolitica (**maltosio, isomaltosio**) dai polisaccaridi.

I disaccaridi si sciolgono in acqua, agiscono sulla luce polarizzata, cristallizzano, si diffondono, sono più dolci dei monosaccaridi. Formano con le basi dei saccarati, con la fenilidrazina (non tutti) degli idrazoni e degli osazoni. Sono scomposti dagli acidi minerali diluiti e dagli alcali a caldo (con abbrunimento del liquido), dai vapori di acqua ad alta pressione, da alcuni fermenti, ciascuna molecola di disaccaride dando due molecole di monosaccaride, con assunzione d'acqua:

$$\underbrace{C^{12} H^{22} O^{11}}_{\text{(saccarosio)}} + H^2 O = \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(destrosio o glicosio)}} + \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(levulosio)}}$$

$$\underbrace{C^{12} H^{22} O^{11}}_{\text{(maltosio)}} + H^2 O = \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(glicosio)}} + \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(glicosio)}} ,$$

$$\underbrace{C^{12} H^{22} O^{11}}_{\text{(lattosio)}} + H^2 O = \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(glicosio)}} + \underbrace{C^6 H^{12} O^6}_{\text{(galattosio)}} .$$

Dalla scomposizione del saccarosio derivano, dunque, destrosio e levulosio; ma questo ha un potere levogiro superiore al potere destrogiro del glicosio; onde il miscuglio di exosi che risulta da quella

scomposizione ha un potere rotatorio contrario a quello della soluzione primitiva di saccarosio. Per ciò quel miscuglio fu detto **zucchero invertito**, e il processo generale della scomposizione idrolitica degli zuccheri (non del saccarosio solamente) **inversione**; mentre il processo contrario, per cui i monosaccaridi si combinano formando di- o polisaccaridi, fu detto **reversione**.

I disaccaridi non fermentano e non riducono i sali metallici in soluzione alcalina, se non dopo essere stati invertiti. Così, per esempio, il lievito di birra prima inverte (mediante l'enzima detto **invertina**) il saccarosio, e poi fa fermentare il glicosio formato. Fanno però eccezione il maltosio, l'isomaltosio e il lattosio, che riducono i sali metallici e dànno osazoni come i monosaccaridi. I disaccaridi possono per ciò essere divisi in due gruppi; quelli del secondo gruppo (questi ultimi) hanno il carattere delle aldeidi degli alcooli, e la seguente formola:

$$CH^2OH.(CHOH)^4.CH\begin{cases} O-CH^2 \\ \quad | \\ O-CH.(CHOH)^3.CHO. \end{cases}$$

Le recenti ricerche di FISCHER hanno dimostrato che ciascun disaccaride può essere invertito solo da un enzima specifico, corrispondentemente alla sua struttura molecolare e alla sua configurazione. Così l'**invertina** scinde il saccarosio, la **maltasi** o **glucasi** il maltosio, la **lattasi** il lattosio.

§ 13. — Il **saccarosio** è molto diffuso come sostanza alimentare; si trova e si estrae dai succhi delle piante e dalle frutta, dalla canna di zucchero, ecc. Tracce ne possono comparire nel sangue e nell'orina. Cristallizza in prismi monoclini grandi, incolori, che fondono a 160° C, e a temperatura superiore dànno **caramella**. Cento parti di soluzione acquosa satura a 20° C di saccarosio ne contiene 67 parti (SCHEIBLER). Si scioglie difficilmente in alcool; è destrogiro.

Per fare la **determinazione quantitativa del saccarosio**, si aggiunge a 40 cm.^{3} della sua soluzione 1 cm.^{3} di una soluzione 25 % di H^2SO^4, e si bolle per mezz'ora, badando che lo zucchero non bruci. Quindi si riporta il liquido al suo volume primitivo, aggiungendo H^2O, e si procede per il resto, come se fosse una soluzione di glicosio. È bene però neutralizzare prima completamente l'H^2SO^4 mediante l'aggiunta di un po' di KOH. Col calcolo si determina la quantità corrispondente di saccarosio, sapendosi che 95 parti del glicosio trovato corrispondono a 100 parti di saccarosio.

§ 14. — Il **lattosio** è lo zucchero contenuto nel latte. Comparisce anche talora nell'orina delle donne che allattano. Cristallizza in prismi rombici incolori, con una molecola d'H^2O di cristallizzazione, che si libera a 100°-140° C. È meno solubile in acqua del saccarosio e del destrosio; insolubile in alcool ed etere. Subisce la fermentazione

alcoolica molto lentamente, sotto l'azione del fermento del Kefir, dopo essere stato invertito in galattosio e glicosio; ma resiste al fermento invertente del lievito. Subisce la fermentazione lattica, per opera del batterio lattico o di altri comuni microrganismi della putrefazione:

$$1)\quad \underbrace{C^{12}H^{22}O^{11} + H^2O}_{\text{(lattosio)}} = \underbrace{4\,C^3H^6O^3}_{\text{(acido lattico)}},$$

$$2)\quad \underbrace{2\,C^3H^6O^3}_{\text{(acido lattico)}} = \underbrace{C^4H^8O^2}_{\text{(acido butirrico)}} + 2\,CO^2 + 2\,H.$$

I cristalli di lattosio, scaldati a 170°-180° C., danno **lattocaramella**: $C^6H^{10}O^5$.

Le soluzioni di lattosio sono destrogire. Le sue combinazioni con le basi alcaline sono insolubili. Il fenillattosazone ($C^{24}H^{32}N^4O^9$) fonde a 200° C. (10 cm.³ del reattivo di FEHLING corrispondono a grammi 0,0676 di lattosio in soluzione 0,5-1,5 %, scaldando per sei minuti).

§ 15. — Il **maltosio** deriva dalla scomposizione idrolitica dell'amido, operata dalla diastasi del malto, durante il germogliare dei semi, o dalla saliva o dal succo pancreatico; deriva anche dal glicogene, e si forma pure per l'azione dell'H^2SO^4 sull'amido.

Cristallizza in aghi bianchi sottili con 1 molecola d'H^2O di cristallizzazione; si scioglie in acqua, discretamente in alcool, punto in etere; è destrogiro; fermenta e riduce i sali metallici, come il glicosio, ma meno di esso (10 cm.³ di reattivo di FEHLING corrispondono a grammi 0,0778 di maltosio anidro in soluzione 1 % circa (SOXHLET)). Il fenilmaltosazone ($C^{24}H^{32}N^4O^9$) fonde a 206° C.

§ 16. — L'**isomaltosio** si forma sotto l'azione di HCl forte sopra il destrosio, per polimerizzazione; ma in seguito fu trovato da LINTNER nella birra, ed è lui che produce la fermentazione successiva dei liquidi fermentescibili. Si forma anche accanto al maltosio durante l'azione delle diastasi sull'amido e sul glicogene, o del siero di sangue sull'amido (RÖHMANN). È molto solubile in acqua, dolcissimo, ma fermenta molto lentamente; è destrogiro.

Il fenilisomaltosazone (cristalli gialli sottili acicolari) fonde a 150°-153° C, ed è solubile in acqua calda.

Altri disaccaridi, sui quali non possiamo fermarci, sono: i **trealosi**, i **melebiosi**, ecc., il **melitosio**, il **melizitosio**, il **sinantrosio** otticamente inattivo.

§ 17. — Come anello di passaggio dai disaccaridi ai polisaccaridi, merita d'essere ricordata una combinazione di destrosio, levulosio e galattosio in una sola molecola, vale a dire uno speciale **trisaccaride** o **exotriosio**, detto **raffinosio**:

$$\underbrace{C^{18}H^{32}O^{16}}_{\text{(raffinosio)}} = \underbrace{C^{12}H^{22}O^{11}}_{\left(\text{destrosio} + \text{levulosio}\right)} + \underbrace{C^6H^{12}O^6}_{\text{(galattosio)}} - H^2O.$$

Il raffinosio si trova nella manna dell'*Eucalyptus,* nei semi del cotone, ecc., e si comporta come il saccarosio, poichè nè riduce il liquido di FEHLING nè fermenta prima d'essere invertito. I suoi cristalli contengono cinque molecole d'H^2O di cristallizzazione.

C. POLISACCARIDI.

§ 18. **Generalità.** — Sono idrati di carbonio amorfi, che non hanno sapore dolce; in acqua in parte si sciolgono (formando soluzioni opalescenti), in parte si rigonfiano più o meno (specialmente in acqua calda), in parte non si modificano affatto. Sono insolubili in alcool ed etere. Per sdoppiamento idrolitico si trasformano in monosaccaridi, onde possono essere considerati come anidridi di questi, aventi un peso molecolare molto alto.

La formola generale dei polisaccaridi è $(C^6H^{10}O^5)^x$.

Le soluzioni acquose dei polisaccaridi sono otticamente attive; ma questi non diffondono a traverso la pergamena artificiale, onde furono anche detti **saccarocolloidi.** Di comune coi colloidi hanno la proprietà d'essere precipitati dalle soluzioni acquose mediante i sali aggiunti sino a saturazione, specialmente dal solfato ammonico (ved. al capitolo: SOSTANZE COLLOIDI).

Già le ricerche di NASSE, POHL e HALLIBURTON avevano mostrato che certi idrati di carbonio colloidali sono precipitati saturando le loro soluzioni con sali neutri. JOUNG recentemente ha esteso questa ricerca anche agli idrati di carbonio cristallizzabili. Egli ha osservato che il destrosio, il levulosio, il saccarosio, il maltosio e il lattosio non sono precipitati dal solfato di magnesio, nè dal cloruro di sodio, nè dal solfato di sodio o d'ammonio. Il glicogene è precipitato completamente dal $MgSO^4$ e dal $(NH^4)^2SO^4$ alla temperatura ordinaria, o dal solfato sodico a 33° C; non è precipitato dal NaCl, dalla semisaturazione con solfato ammonico, ecc. È questo un mezzo per separare il glicogene dall'eritrodestrina, che non è precipitata da alcun sale, benchè il joduro d'eritrodestrina sia precipitabile. L'amido è precipitato dal solfato d'ammonio, di magnesio e dal solfato di sodio a 33° C.

L'acrodestrina è in parte precipitata, saturando con solfato d'ammonio. L'inulina è precipitata anche in parte dal solfato di magnesio.

I polisaccaridi sono sostanze chimiche affatto indifferenti; non si combinano con le basi, nè con la fenilidrazina, non riducono i sali metallici in soluzione alcalina, non fermentano. Però dall'azione di alcune specie di *Mucor* sull'amido e sul glicogene può formarsi alcool, dopo che questi microrganismi li hanno trasformati in destrine e zuccheri.

Possiamo dividere i polisaccaridi in gruppi, dei quali studieremo i rappresentanti principali.

§ 19. — Nel **gruppo dell'amido** prenderemo in considerazione innanzi tutto l'**amido**: $(C^6 H^{10} O^5)^x$, una sostanza bianca, polverulenta, insipida, inodore, che si trova, come sostanza di riserva, contenuta nei semi, radici, ecc., delle piante, ed è formata di piccoli granuli aventi struttura stratificata e forma e grandezza differenti nelle diverse piante. (Per la struttura e la composizione chimica dei grani d'amido, ved. il capitolo: La Cellula).

L'amido è quasi insolubile in acqua fredda, alcool, etere; in acqua calda i grani si rigonfiano, scoppiano e formano la **salda d'amido**.

Soprariscaldando l'amido con acqua, con glicerina a 190° C., o trattandolo con sei parti di H Cl diluito (della densità 1,06) alla temperatura ordinaria per 6-8 settimane, si ottiene l'**amido solubile** o **amidolina**, che si forma anche durante la saccarificazione dell'amido fatta da acidi minerali diluiti, durante la quale si forma definitivamente del glicosio. Per contro, sdoppiando l'amido per mezzo degli enzimi diastatici, si forma, oltre all'amidolina e alla destrina, maltosio e isomaltosio, con pochissimo glicosio.

La salda d'amido non dà le reazioni di Moore o di Trommer, nè fermenta.

Lintner e Duell trovarono, col metodo crioscopico, per l'amido solubile un peso molecolare di 17750, donde calcolarono la formola:

$$(C^6 H^{10} O^5)^{108}.$$

Reazione caratteristica dell'amido è la sua colorazione blu con lo I in presenza di H I (per ciò è bene acidificare la soluzione jodojodurata con poco acido solforico) o I K; colorazione che sparisce aggiungendo al liquido dell'alcool o dell'alcali, o col riscaldamento, che dissocia la combinazione dello I con l'amido (joduro d'amido), mentre ritorna, quando il liquido si raffredda. Se si riscalda troppo a lungo, tutto lo I è scacciato via.

L'acido tannico produce in una soluzione di amido un precipitato giallo, che, scaldando, si ridiscioglie.

§ 20. **Determinazione quantitativa dell'amido.** — Per determinare quantitativamente l'amido, si tratta il liquido o la sostanza in cui è contenuto con $H^2 S O^4$ diluito, e si bolle per un certo tempo; quindi si riporta il liquido al volume primitivo, e si determina col liquido di Fehling la quantità di glicosio che vi s'è formato. Sapendosi che 90 parti di destrosio corrispondono a 100 parti di amido, si può calcolare la quantità di amido.

§ 21. — L'**inulina** $(C^6 H^{10} O^5)^x + H^2 O$ si trova specialmente nelle radici dell'*Inula helenium*, delle dalie, degli elianti, ecc. È una polvere simile all'amido, facilmente solubile in acqua calda, donde preci-

pita col raffreddamento, o con l'aggiunta di alcool. Si colora in giallo con lo I. Sdoppiandosi sotto l'influenza degli acidi (gli enzimi quasi non agiscono sopra essa) dà levulosio. È l'unico polisaccaride che si può ottenere facilmente in forma cristalloide, cioè in piccoli sferocristalli polarizzanti la luce.

La **lichenina** è il saccaride del lichene islandico. Si rigonfia come gelatina in acqua fredda, si scioglie in acqua calda. Si colora anche essa in giallo con lo I. Sdoppiandosi (con gli acidi) dà glicosio. Non è attaccata dagli enzimi.

§ 22. — Il **glicogene**, che si forma nell'organismo animale stesso e si trova in piccolissima quantità nel protoplasma vivente, è una polvere amorfa, bianca, inodore, insipida, che coll'acqua dà una soluzione opalescente, destrogira; colorantesi in rosso vinoso o rosso mogano con lo I, specialmente in presenza di Na Cl, colore che sparisce, scaldando, e ritorna col raffreddamento.

Sabanejeff trovò per il glicogene puro e secco un peso molecolare di 1625, onde calcolò la formola: $(C^6 H^{10} O^5)^{10}$.

Il glicogene è capace di sciogliere l'idrato d'ossido di rame in soluzione alcalina, ma non lo riduce; in soluzione acquosa non è precipitato dal joduro potassio-mercurico e H Cl; bensì è precipitato dall'alcool (specialmente in presenza di un po' di Na Cl) e dall'acetato di piombo ammoniacale, da cloruro di benzoile e Na OH in forma granulosa bianca (glicogene benzoilato).

Bollito a lungo con soluzione di K O H, non si decompone, ma si altera un poco. Gli enzimi diastatici lo trasformano, secondo la natura loro, in maltosio o glicosio; gli acidi minerali diluiti lo trasformano in glicosio.

Il glicogene ha molti punti di rassomiglianza con l'eritrodestrina, dalla quale non è agevole distinguerlo. Infatti gli spettri del jodoglicogene e della jodoeritrodestrina sono identici, consistono in un assorbimento generale dal giallo al violetto, e corrispondono allo spettro della soluzione jodojodurata (Bruecke, Hupper). Per distinguere il glicogene dall'eritrodestrina non rimangono dunque che l'aspetto opalescente della soluzione del primo e i caratteri fisici delle due sostanze solide e secche.

§ 23. **Preparazione del glicogene.** — Immediatamente dopo la morte dell'animale, l'organo, dal quale si vuol ricavare il glicogene, è buttato in acqua bollente, finamente spezzettato e cotto ripetutamente sempre con nuove parti di acqua. Gli estratti filtrati sono concentrati, lasciati a raffreddare e liberati dalle sostanze proteiche mediante l'aggiunta alternata di joduro potassio-mercurico e H Cl. Nel filtrato si precipita il glicogene con alcool, che si aggiunge sino a che il liquido totale ne contenga 60 volumi $^0/_0$; lo si lava sul filtro prima con alcool a 60°, poi con alcool a 95°, da ultimo lo si tratta

con etere e lo si mette a disseccare sopra l'H^2SO^4. Così ottenuto, il glicogene contiene sempre delle sostanze minerali.

§ 24. **Determinazione quantitativa del glicogene.** — 1. **Metodo di Brücke-Külz.** — Per esser sicuri della completa estrazione del glicogene dal fegato o dai muscoli, bisogna farli bollire per alcune ore (2-3 ore per il fegato, 4-8 per i muscoli) in una soluzione diluita di KOH (grammi 4 di KOH e grammi 400 di acqua per grammi 100 di organo fresco). L'estratto così ottenuto è concentrato fino a che contenga al più 2 % di KOH; quindi è neutralizzato con HCl, e trattato come sopra. Vale a dire, si precipita il glicogene dai vari estratti, uniti insieme e liberati dalle sostanze proteiche, con un volume doppio di alcool, si filtra dopo 12 ore; il precipitato è lavato prima almeno quattro volte con acqua, cui siano state aggiunte alcune gocce di HCl e del joduro di potassio-mercurico, quindi lo si scioglie in poca acqua calda, lo si lascia raffreddare, si aggiunge di nuovo HCl e joduro mercuro-potassico, si filtra, e dal filtrato si precipita di nuovo il glicogene con alcool. Da ultimo si lava il precipitato sul filtro con alcool ed etere, lo si dissecca, lo si pesa e lo si incinera per determinarvi la quantità di sostanze minerali che conteneva.

Talora accade che il liquido, dopo la completa precipitazione delle sostanze proteiche con HCl e joduro mercuro-potassico, sia torbido e non filtri. In tali casi, si aggiungono 2-2 ½ volumi di alcool a 95° (PFLUEGER), e, dopo che il liquido s'è rischiarato e un precipitato s'è deposto, si filtra. Si scioglie poi questo precipitato in soluzione 2 % di KOH e si tratta di nuovo il liquido con HCl e joduro mercuro-potassico. Quindi si procede come negli altri casi.

2. **Metodo di Fränkel.** — FRAENKEL estrae il glicogene dai tessuti e tratta gli estratti con una soluzione acquosa 3-4 % di acido tricloroacetico, che dovrebbe eliminare tutte le sostanze proteiche. Ma poichè questo metodo non rappresenta un progresso su quello precedente (WEIDENBAUM), crediamo inutile riferirne tutti i particolari.

Specialmente ricchi di glicogene sono i molluschi, che ne possono contenere fino al 14 % della loro sostanza secca, i tessuti embrionali e patologici che presentano uno sviluppo rapidissimo.

§ 25. Nel **gruppo delle destrine e delle gomme vegetali** noi troviamo le **gomme vegetali** (gomma arabica, agar-agar, ecc.) che si estraggono con solventi adatti da molte parti delle piante, sono solubili in acqua, e le soluzioni, dense, sono anche filtrabili. Sdoppiandosi, dànno esosi (galattosio), e anche (per esempio la gomma arabica) spesso abbondante quantità di pentosio. (Sui caratteri loro torneremo nel capitolo delle SOSTANZE COLLOIDI).

(Col nome di **muco vegetale** chiamiamo, invece, quelle specie di gomme vegetali che in acqua si sciolgono solo in parte, mentre vi si rigonfiano notevolmente).

La **destrina** si ottiene scaldando dell'amido a 200°-210° C. o disseccando a 100°-110° C. dell'amido bagnato con acqua acidulata con HNO^3. Essa rappresenta uno stadio di passaggio nel processo della saccarificazione. Sdoppiandosi, dà prima zucchero ed **eritrodestrina** (che, secondo MUSCULUS e MEYER, è un miscuglio di acrodestrina e amido solubile) colorantesi in rosso con lo I, poi, sdoppiandosi ancora, zucchero e **acrodestrina**, non colorantesi con lo I. Da questa si formano in seguito zucchero e destrine di peso molecolare sempre minore, che sempre più s'allontanano dalla prima destrina, perdendone via via anche le reazioni.

Fra queste ultime degna di nota è la **maltodestrina**, che sembra trasformarsi definitivamente in zucchero. Le varie destrine non sono state ancora completamente isolate, e non si può dire quante se ne formino durante il processo idrolitico della saccarificazione.

In ogni modo durante la scissione idrolitica dell'amido, non si forma mai subito glicosio, ma prima dall'acrodestrina isomaltosio, che si trasforma nell'isomero maltosio, il quale ultimo solamente scindendosi dà destrosio.

Le destrine si presentano come polvere bianco-giallastra, amorfa, facilmente solubile in acqua, un po' diffusibile, quasi insolubile in alcool ed etere; a forte concentrazione le soluzioni hanno aspetto gommoso, ma non sono mai opalescenti come le soluzioni di glicogene. Sono destrogire, non sono precipitate dall'acetato basico di piombo, bensì da questo più NH^3, sciolgono l'idrato d'ossido di rame in soluzione alcalina, senza ridurlo. Solo quelle ottenute mediante l'azione degli acidi hanno natura aldeidica e riducono i sali metallici (SCHEIBLER e MITTELMEYER); non fermentano.

§ 26. — Nel **gruppo del cellulosio** incontriamo il **cellulosio**, che forma le membrane cellulari giovani dei tessuti vegetali (nelle cellule vecchie il cellulosio s'è in parte trasformato in lignina), ed è insolubile in acqua fredda o calda, in alcool, etere, ecc., acidi ed alcali diluiti. Un solvente del cellulosio è il reattivo di SCHWEITZER, che è una soluzione ammoniacale di idrato d'ossido di rame. Così sciolto, può essere precipitato con gli acidi, o con un eccesso di acqua, lavato con acqua e raccolto come polvere amorfa.

Sottoposto all'azione dell'H^2SO^4 concentrato, si scioglie e si trasforma in idrocellulosio (amiloide) e destrine, e in una sostanza colorantesi in blu con lo I. Con HNO^3 forte, o $HNO^3 + H^2SO^4$, il cellulosio dà **nitrocellulosio**, che è una sostanza esplosiva. Bollito con H^2SO^4 diluito, dà destrosio.

Se si immerge la carta da filtro in acido solforico concentrato (2 volumi d'H^2SO^4 + 1 volume d'H^2O), e ne la si allontana subito, o si diluisce l'acido con acqua, si trasforma in pergamena artificiale.

Determinazione quantitativa del cellulosio (LANGE). — Dieci grammi di sostanza sono mescolati con 30-40 gr. di potassa caustica pura e con 30-40 cm.^{3} d'acqua in un'ampia storta; questa è chiusa con un tappo di vetro e scaldata in un bagno d'olio, la cui temperatura è misurata da un termometro, il cui bulbo trovasi allo stesso livello del fondo della storta. A 140° C. il miscuglio comincia a bollire, con formazione di molta schiuma; si eleva la temperatura gradatamente fino a 180° C., e si continua il riscaldamento per circa un'ora. La schiuma sparisce, la massa contenuta nella storta cade al fondo e si dissecca: così termina la reazione. Si toglie quindi la storta dal bagno, e, quando il suo contenuto s'è raffreddato a circa 80° C., vi si versa dell'acqua calda, e poi si raccoglie in un bicchiere, avendo cura di lavare accuratamente la storta prima con acqua calda, poi con acqua fredda e di raccogliere insieme tutti i liquidi di lavaggio. Dopo il raffreddamento si acidifica il liquido con H^2SO^4 diluito, per cui si forma un precipitato di grossi fiocchi, costituito in parte di cellulosio. Ora, mediante l'aggiunta di una soluzione molto diluita di alcali, si rende il liquido nel bicchiere appena alcalino, in guisa che tutte le altre sostanze precipitate insieme col cellulosio, ad eccezione di questo, si ridisciolgano. Quindi si filtra nel vuoto sopra un cono di platino, si lava il residuo sul filtro con acqua calda e fredda, lo si toglie dal filtro e lo si digerisce in alcool, di nuovo lo si filtra; lo si lava con etere, lo si dissecca e pesa. Finalmente si incinera la sostanza così ottenuta, e si sottrae il peso delle ceneri, per avere il peso del cellulosio puro.

Emicellulosio chiama SCHULTZE quella sostanza che si trova anche nelle membrane cellulari e che, a differenza del cellulosio, si saccarifica sotto l'azione di acidi minerali diluiti e bollenti.

Prodotti di trasformazione del cellulosio sono la lignina e il sughero. La lignina in presenza di una soluzione di fluoroglucina in HCl concentrato si colora in rosso: mediante questa reazione si può riconoscere la presenza di lignina nella carta.

Il cellulosio si trova anche in animali, per esempio: nel mantello dei tunicati (**tunicina**, che, secondo BERTHELOT, differisce dal cellulosio vegetale, perchè bollita con H^2SO^4 diluito si trasforma meno facilmente in destrosio), nel mantello delle *Pyrosamidae*, delle *Salpidae* e della *Phallusia mammillaris* (questo cellulosio, secondo SCHAEFER, è identico a quello vegetale), nella cute del baco da seta (DE LUCA), nel *Zoocytium* dell'*Ophrydium versatile* (HALLIBURTON), e finalmente in tessuti e organi umani degenerati (? milza, cervello, VIRCHOW).

Per quanto riguarda, in modo speciale, la **tunicina**, le ricerche più recenti, particolarmente quelle di WINTERSTEIN, hanno stabilito che questa sostanza è molto affine e forse identica al cellulosio vegetale.

Essa ha una composizione elementare, che può essere espressa mediante la formola $C^6 H^{10} O^5$; è colorata in blu o blu-violetto dallo iodio e acido solforico o dal cloruro di zinco e acido cloridrico; è insolubile in acidi e alcali diluiti; non è nemmeno disciolta da un miscuglio di clorato potassico e acido cloridrico e dal successivo trattamento con NH^3 diluita calda; dà, trattata con un miscuglio di acido solforico e acido nitrico concentrati, un nitroderivato, che somiglia al nitrocellulosio; e finalmente nella sua scomposizione idrolitica dà destrosio, oltre a una piccola quantità d'un altro zucchero. WINTERSTEIN non ha potuto confermare il resultato di BERTHELOT, che cioè il cellulosio animale ha una maggior resistenza verso gli acidi che il cellulosio vegetale.

(La sostanza del mantello dei tunicati, come le pareti delle cellule vegetali, al polarimicroscopio presenta molto evidentemente il fenomeno della birefrangenza).

§ 27. **Jaline. Condroitina** e **condrosina. Chitina.** — Contrariamente a quanto si legge in altri trattati, noi dobbiamo parlar qui di queste sostanze, vale a dire dopo i polisaccaridi, essendo stato dimostrato da recenti ricerche che esse sono dei veri idrati di carbonio colloidali azotati, che facilmente entrano in combinazione con altre sostanze, formando composti più complessi. Queste sostanze però solo in parte (**chitina, jalina** delle vesciche di echinococco) trovansi propriamente come tali in natura, mentre in parte non sono che prodotti di scomposizione di altre sostanze più complesse (**jaline** dei jalogeni, **condrosina**).

Le **jaline** nascono dalla scissione dei jalogeni, in cui si trovano unite con una sostanza proteica.

Mentre questi presentano le reazioni colorate delle sostanze proteiche, le jaline non le presentano affatto.

Le jaline, trattate con acidi minerali diluiti e bollenti, dànno dei prodotti di scomposizione simili a zuccheri, solubili in alcool e diffusibili, che riducono la soluzione alcalina di solfato di rame, e contengono N. Questi prodotti di scomposizione delle jaline molto probabilmente sono analoghi alla glicosamina ($C^6 H^{11} O^5 . NH^2$). Un esempio di jalina è la **spirografidina** ottenuta da KRUKENBERG mediante il trattamento della **spirografina**, uno jalogene, con KOH o Na OH a freddo.

Jalina fu anche chiamata la sostanza organica fondamentale della parete delle cisti di echinococco, translucide, opaline, la cui composizione, secondo LUECKE, sarebbe:

	C	H	N	O
jalina delle cisti vecchie	45,3	6,5	5,2	43,0
» » giovani	44,1	6,7	4,5	44,7.

Come si vede, è una sostanza priva di S. Essa dà (circa 50 %), bollita con acido solforico diluito, uno zucchero destrogiro, riducente il solfato di rame in soluzione alcalina, capace di fermentare.

Questi caratteri la differenziano dalla cheratina, che contiene S e non dà sostanze riducenti nella sua scomposizione, e dalla chitina per la sua solubilità in soluzioni di KOH e Na OH o in acidi diluiti o in acqua soprariscaldata (a 150° C).

Da queste soluzioni la jalina è precipitata dall'acetato di piombo basico o neutro, dal nitrato mercurico e dall'alcool; mentre l'acqua di cloro, l'acido tannico, il ferrocianuro potassico con acido acetico, il nitrato d'argento, il cloruro mercurico non vi producono alcun precipitato.

Vedremo in seguito che l'acido condroitico, secondo SCHMIEDEBERG, è un etere solforico appaiato, da lui detto **acido condroitin-solforico.** Ora la **condroitina**, cui l'acido solforico è combinato, è una specie d'idrato di carbonio amorfo, solubile in acqua, contenente azoto, e che per ciò può essere noverata fra le jaline.

Trattata con acidi minerali bollenti, la condroitina, che per sè stessa non riduce la soluzione alcalina di $Cu\,SO^4$, dà, oltre ad acido acetico, un idrato di carbonio azotato meno complesso, che quella soluzione riduce, detto da SCHMIEDEBERG **condrosina.** Questa, bollita con idrato di barite, si scinde in acido glicoronico e glicosamina, probabilmente secondo la seguente equazione:

$$1)\qquad \underbrace{C^{18}H^{27}NO^{14}}_{\text{(condroitina)}} + 3\,H^2O = \underbrace{C^{12}H^{21}NO^{11}}_{\text{(condrosina)}} + 3\,\underbrace{CH^3 . CO\,OH}_{\text{(acido acetico)}}$$

$$2)\qquad \underbrace{C^{12}H^{21}NO^{11}}_{\text{(condrosina)}} + H^2O = \underbrace{CO\,OH . (CH . OH)^4 . C\,\begin{matrix}H\\O\end{matrix}}_{\text{(acido glicoronico)}} + \underbrace{C^6H^{11}O^5 . NH^2}_{\text{(glicosamina)}};$$

onde potrebbe assegnarsi alla condrosina la seguente formula:

$$CHO - CH \begin{cases} N = CH - (CH . OH)^4 - CO\,OH \\ (CH . OH)^3 - CH^2\,OH. \end{cases}$$

Tanto la condroitina quanto la condrosina sono acidi monobasici e somigliano molto, nella loro composizione e nelle loro proprietà, alla gomma arabica. La condrosina riduce il sale di rame più intensamente del glicosio, è destrogira ($(\alpha)\,D = +42{,}0°$) (BOEDEKER). e corrisponde alla « sostanza riducente » che si otteneva prima in forma impura bollendo le cartilagini con un acido minerale.

Un'altra sostanza che si può noverare fra le jaline è la **chitina**, molto diffusa negli animali inferiori (artropodi), in cui entra nella

formazione del rivestimento cutaneo, delle lamelle interne di sostegno delle trachee e delle guaine delle fibre nervose. La si trova anche nei cefalopodi, nei brachiopodi e nelle membrane di alcuni funghi (« cellulosio dei funghi », WINTERSTEIN, GILSON, ecc.).

Secondo KRAWKOW, esistono diverse chitine, come si può indurre dal fatto che sostanze ottenute da diversi animali si tingono con lo iodo, o con iodo e acido solforico, ora in rosso-bruno, ora in violetto, ora in giallo-citrino, o non si tingono affatto. Queste chitine, in natura, si troverebbero combinate con una sostanza probabilmente proteica, ed esse stesse sarebbero derivati aminici di diversi idrati di carbonio (glicosio, glicogene, destrina, ecc.).

La chitina si distingue dalle altre jaline per la sua insolubilità. L'acido cloridrico concentrato freddo e l'acido solforico la sciolgono, formando del cloridrato e del solfato di chitina, composti che a lungo andare, o rapidamente a caldo, si scindono in glicosamina (circa 35 % secondo GAUTIER, 92 % secondo SUNDWIK) e acido acetico:

$$\underbrace{C^{18}H^{30}N^2O^{12}}_{\text{(chitina)}} + 4\,H^2O = \underbrace{2\,(C^6H^{11}O^5 . NH^2)}_{\text{(glicosamina)}} + \underbrace{3\,CH^3 . CO\,OH}_{\text{(acido acetico)}}.$$

Diverso è il modo di scomporsi della chitina, quando vien trattata con un alcali caustico e poca acqua, nel bagno d'olio a 180° C. In tali condizioni, mentre si svolge ammoniaca, si forma acido acetico e un altro idrato di carbonio azotato, facilmente solubile in acidi diluiti, detto **chitosano**:

$$\underbrace{C^{18}H^{30}N^2O^{12}}_{\text{(chitina)}} + 2\,H^2O = \underbrace{C^{14}H^{26}N^2O^{10}}_{\text{(chitosano)}} + \underbrace{2\,CH^3 . CO\,OH}_{\text{(acido acetico)}}.$$

Anche il chitosano, trattato con acido cloridrico forte, si scinde, con assunzione d'acqua, in glicosamina e acido acetico.

Trattato invece a caldo con anidride acetica, il chitosano si trasforma in un corpo, che somiglia alla chitina per la sua insolubilità, ma non è identico ad essa.

Per quanto riguarda la costituzione stessa della chitina, possiamo dire quanto segue.

SUNDWIK ammise per questa sostanza la formola

$$C^{60}H^{100}N^8O^{38} + n\,(H^2O),$$

in cui n può variare da 1 a 4; essa sarebbe un derivato aminico d'un idrato di carbonio avente la formola generale $n\,(C^{12}H^{20}O^{10})$.

GAUTIER dà la formola $C^{15}H^{24}N^2O^9$ o un multiplo di questa, che corrisponde alle analisi: C 46,32; H 6,4; N 6,2; e LEDDERHOSE, per la sostanza disseccata a 110° C, la formula $C^{15}H^{26}N^2O^{10}$.

Secondo SCHMIEDEBERG, la chitina sarebbe una combinazione acetilacetica della glicosamina; e poichè anche l'acido condroitin-

solforico contiene, come abbiamo veduto, un gruppo glicosaminico. questo costituirebbe, secondo lo stesso Autore, come un ponte di passaggio fra la chitina degli animali inferiori e la cartilagine degli organismi superiori.

La chitina secca si presenta come una sostanza bianca, insolubile in acqua bollente, alcool, etere, acido acetico, acidi minerali diluiti e alcali diluiti. Abbiamo visto che gli acidi minerali concentrati freddi la sciolgono, combinandosi con essa, caldi la scompongono.

Se si scioglie la chitina in acido solforico concentrato e si fa cadere questa soluzione in acqua bollente, e di nuovo si bollisce per un certo tempo, nel liquido si può scoprire l'esistenza di un corpo (glicosamina o un idrato di carbonio), che riduce la soluzione alcalina di solfato di rame.

Preparazione della chitina. — Si può ottenere facilmente dalle ali degli insetti o dai gusci degli artropodi, dopo aver liberato queste parti dai sali di calcio mediante trattamento con un acido minerale diluito.

Si bolliscono poi quelle parti decalcificate in liscivia alcalina, finchè siano divenute bianche, si lavano con acqua, con un acido diluito e con acqua, e finalmente le si estraggono con alcool ed etere. Nel residuo è contenuta la chitina, e si può decolorarlo completamente mediante trattamento con permanganato potassico. Se ora si scioglie questo residuo in acido solforico freddo concentrato, e poi si diluisce con acqua la soluzione solforica, la chitina precipita, liberandosi dalle altre sostanze cui era legata (KRAWKOW).

§ 28. **Glicosidi.** — I glicosidi sono combinazioni di una o più molecole di zucchero con altre sostanze diverse. Queste combinazioni sono scisse dall'acido solforico bollente o da fermenti. Gli zuccheri che diventano liberi sono, si comprende, zuccheri naturali, non ancora ben conosciuti; ma da quanto si sa, si può arguire che essi non sono differenti dai noti monosaccaridi. Così, per es., l'amigdalina, la salicina, la populina, l'acido ruberitrinico dànno vero destrosio; l'esculina, l'arbutina, la coniferina dànno un glicosio destrogiro, cristallizzabile, fermentescibile, non però identico al destrosio; la florizina dà un glicosio detto da HESSE **florosio** ($(\alpha)\ D = 40^0$).

Meritano d'essere rammentati qui alcuni fra i più comuni **glicosidi**, sostanze che si trovano nelle piante ed anche negli animali.

L'**amigdalina**, che si trova nelle mandorle amare, è scomposta nel modo seguente da un enzima, detto **emulsina** o **sinaptasi**:

$$\underset{\text{(amigdalina)}}{C^{20}H^{27}O^{11}} + 2H^2O = \underset{\left(\text{idrato di benzoile, olio di mandorle amare}\right)}{C^7H^6O} + \underset{\left(\text{acido cianidrico}\right)}{HCN} + \underset{\text{(glicosio)}}{2C^6H^{12}O^6}.$$

La **salicina** dà i seguenti prodotti di scomposizione:

$$\underset{\text{(salicina)}}{\underline{C^{13}H^{18}O^{7}}} + H^{2}O = \underset{\text{(saligenina)}}{\underline{C^{7}H^{18}O^{2}}} + \underset{\text{(glicosio)}}{\underline{C^{6}H^{12}O^{6}}}.$$

Il **tannino**:

$$\underset{\text{(tannino)}}{\underline{C^{27}H^{22}O^{11}}} + 4\,H^{2}O = \underset{\text{(acido gallico)}}{\underline{3\,C^{7}H^{6}O^{5}}} + \underset{\text{(glicosio)}}{\underline{C^{6}H^{12}O^{6}}}.$$

Il **mironato potassico**:

$$\underset{\text{(mironato potassico)}}{\underline{C^{10}H^{18}KNS^{2}O^{10}}} = \underset{\left(\text{solfato monopotassico}\right)}{\underline{KHSO^{4}}} + \underset{\text{(olio di senape)}}{\underline{C^{3}H^{5}CSN}} + \underset{\text{(glicosio)}}{\underline{C^{6}H^{12}O^{6}}}.$$

Altri glicosidi sono: la **digitalina**, l'**elleboreina** (?), l'**acido ruberitrinico** (donde deriva l'alizarina), la **coniferina** (donde deriva la vanillina), la **santonina**, la **saponina**, la **solanina**, ecc., e l'**indicano** (donde deriva l'indigo).

I glicosidi animali sono: la mucina, i cerebrosidi, la chitina, l'acido carminico, ecc.

Come **glicosidi artificiali** sono da considerarsi alcuni composti eterei, quali il fenolglicoside, l'elicina, la metilarbutina, la saliretina, ecc., ottenuti per sintesi.

2. — *PRODOTTI DELLA DIGESTIONE DEGLI IDRATI DI CARBONIO.*

§ 29. Nell'alimentazione ordinaria, gli idrati di carbonio non giungono al tubo digerente nella forma in cui possono essere assorbiti, o vi giungono solo in piccola parte. La massima parte degli idrati di carbonio che l'animale ingerisce deve andar soggetta a speciali modificazioni, prima di raggiungere quella forma più appropriata all'assorbimento. Infatti noi prendiamo eccezionalmente e in piccola dose del destrosio, del levulosio, del lattosio o del saccarosio (zuccheri che possono essere più o meno completamente assorbiti come tali o dopo essere stati semplicemente invertiti), mentre riceviamo la parte principale d'idrati di carbonio sotto forma di amido, per lo più cotto.

È di questo, dunque, che noi dovremo principalmente occuparci in questo capitolo. Giacchè, a parte i monosaccaridi che, come dicemmo, vengono assorbiti come tali, le sostanze del gruppo del cellulosio che contribuiscono solo in piccola parte alla nutrizione dei vertebrati superiori, e le gomme vegetali e il glicogene che non fanno parte della nostra alimentazione, non resta che il gruppo dell'amido e delle destrine, le quali ultime già sono prodotti di scomposizione del primo.

Tuttavia merita d'essere rammentato che il **saccarosio** può essere in parte invertito dall'acido del succo gastrico, benchè l'inversione totale di esso avvenga nel tubo intestinale, per opera di uno speciale enzima contenuto nel succo enterico, e detto **invertina.**

Secondo VOIT l'inversione del saccarosio e la sua trasformazione in destrosio e levulosio è indispensabile perchè ne succeda l'assorbimento. Pure, se il saccarosio è somministrato in grandi dosi, una parte di esso può essere assorbita anche come tale.

Anche il **lattosio** pare che sia assorbito (VOIT e LUSK) senza subire trasformazioni; ma una parte di esso, maggiore o minore a seconda delle condizioni del tubo digerente, subisce la fermentazione lattica, butirrica o alcoolica, per opera dei bacteri del contenuto intestinale.

Non può essere assolutamente escluso un assorbimento della destrina; almeno OTTO e v. MERING trovarono nel sangue della vena porta degli idrati di carbonio simili a destrine, in seguito a un'abbondante ingestione di amido.

Sembra che il **cellulosio** non sia attaccato dai succhi digerenti. Tuttavia una parte di cellulosio proveniente da giovani e tenere cellule vegetali sparisce dall'intestino umano, probabilmente perchè scomposto dall'azione dei microrganismi, i quali lo trasformano in CH^4, CO^2, acido acetico, butirrico, valerianico, ecc., sostanze che, come si vede, non hanno o hanno debolissimo valore nutritivo. Se le digestioni artificiali fatte da HOFMEISTER, TAPPEINER, HOPPE-SEYLER rispecchiano quello che succede nell'intestino degli animali, bisogna convenire che non si può parlare di una **digestione** del cellulosio, ma di una fermentazione batterica di esso, inutile all'organismo, con sviluppo di acidi grassi e di gran quantità di gas.

§ 30. Il processo per cui l'amido cotto (nel quale, cioè, il calore ha prodotto una prima modificazione consistente nella rottura delle pareti cellulosiche dei suoi grani, e in un certo rigonfiamento della sua sostanza) si trasforma nel canale digerente in zucchero, è un processo enzimatico idrolitico, operato dalla diastasi dei semi germoglianti e dalla ptialina della saliva e specialmente del succo pancreatico (queste diastasi sono propriamente delle **maltasi**), il quale differisce in molti punti dal processo idrolitico operato dagli acidi minerali diluiti ad alta temperatura. Infatti, mentre questi trasformano a lungo andare tutto l'amido in destrosio, la diastasi (il cui *optimum* d'azione è raggiunto a 50°-55° C) lascia indietro una parte della molecola dell'amido allo stato di destrina non più trasformabile, che può essere del resto ulteriormente scomposta dalla ptialina (il cui *optimum* è raggiunto a 40° C).

Come quando si tratta l'amido con acidi minerali diluiti a caldo, o coi vapori d'acqua ad alta tensione, anche nel processo enzimatico

si forma, come primo prodotto di scomposizione di esso, l'amidolina. Ma il prodotto finale dell'azione degli enzimi, in mancanza di azioni batteriche accessorie, non è il destrosio, come nella scomposizione artificiale, ma isomaltosio, maltosio, e solo 1 °[, circa di detrosio, che potrebbe anche essere prodotto dell'inversione dei primi due. Vari stadi di passaggio, che si son potuti accertare, nel processo enzimatico, sarebbero chiaramente indicati dal seguente schema:

Ma ricerche ulteriori hanno dimostrato, in primo luogo, che negli stadi intermedi non si forma mai maltosio libero, e poi che il maltosio nasce da ultimo per una trasformazione dell'isomaltosio. Espresso nelle corrispondenti formole chimiche, il processo dunque più propriamente si comporrebbe, secondo LINTNER e DUELL, dei seguenti quattro stadi:

I. $$\underbrace{(C^{12}H^{20}O^{10})^{54}}_{\text{(amidolina)}} + 3\,H^2O = \underbrace{3[(C^{12}H^{20}O^{10})^{17}.C^{12}H^{22}O^{11}]}_{\text{(eritrodestrina)}}$$

II. $$3[(C^{12}H^{20}O^{10})^{17}.C^{12}H^{22}O^{11}] + 6\,H^2O = \underbrace{9[(C^{12}H^{20}O^{10})^{5}.C^{12}H^{22}O^{11}]}_{\text{(acrodestrina)}}$$

III. $$9[(C^{12}H^{20}O^{10})^{5}.C^{12}H^{22}O^{11}] + 45\,H^2O = \underbrace{54\,C^{12}H^{22}O^{11}}_{\text{isomaltosio}}$$

IV. $$54\,C^{12}H^{22}O^{11} = \underbrace{54\,C^{12}H^{22}O^{11}}_{\text{(maltosio)}}.$$

Non altrimenti si comporta il glicogene.

Nell'intestino il processo si svolge più rapidamente e più intensamente che nella bocca, in cui l'amido rimane solo per breve tempo; esso subisce poi un arresto nello stomaco, dal momento in cui la secrezione e l'acidità del succo gastrico comincia a prevalere; per ricominciare nell'intestino, quando i succhi intestinali hanno neutralizzato l'acidità del contenuto gastrico disceso in esso.

L'isomaltosio formatosi durante questo processo nell'intestino è poi trasformato in maltosio, e questo finalmente invertito in glicosio.

Le diverse specie di amido oppongono una resistenza variabile al-

l'azione degli enzimi amilolitici, che è principalmente dovuta alla natura e quantità degli involucri cellulosici; l'amido crudo è digerito molto più difficilmente del cotto.

Così che nella bocca e nello stomaco normalmente si trovano appena piccolissime quantità di zucchero, e si può dire che la saccarificazione dell'amido si compie quasi esclusivamente nell'intestino, tanto più che la ptialina salivare non solo è arrestata nella sua azione enzimatica, ma distrutta dall'H Cl del succo gastrico. Tuttavia si può dimostrare la formazione di zucchero nella bocca, tenendovi per breve tempo dell'amido cotto, e poi facendo cadere il contenuto boccale in un po' d'acqua bollente, che distrugge immediatamente la ptialina. Filtrando il liquido, mediante una qualunque delle reazioni dello zucchero, se ne può sempre dimostrare in esso la presenza. Una piccola parte di amido può subire la fermentazione lattica nello stomaco, dopo essere stata trasformata in destrina e zucchero, per opera del *Bacterium lactis,* che può agire anche in presenza dell'H Cl del succo gastrico, o può essere nell'intestino trasformata in zucchero di latte dalla lattasi, che si trova in grande quantità nel succo enterico.

Il processo amilolitico è in certo modo inibito dall'accumularsi dei prodotti di scomposizione idrolitica dell'amido. L'allontanamento di questi non solo affretta la saccarificazione, ma fa sì che si produca relativamente più maltosio e meno destrina.

Si trovano nell'intestino dei microrganismi i quali producono enzimi che non solamente son capaci d'invertire i disaccaridi, ma anche di saccarificare l'amido (*Bacterium termo*, ecc.). Si direbbe, dunque, che essi valgano ad aiutare l'azione dell'invertina e dell'amilopsina o ptialina pancreatica. Ma il processo amilolitico provocato da quegli enzimi batterici non si arresta allo stadio utile di maltosio o glicosio; per lo più, gli zuccheri che si formano in questo modo si trasformano ulteriormente in acido lattico, acetico e loro omologhi prossimi, e poi in alcool, CO^2, CH^4, H^2; vale a dire, non sono utilizzati dall'organismo.

Tuttavia, la produzione di questi acidi non è, forse, inutile; probabilmente essa arresta le ulteriori fermentazioni, che attaccherebbero le sostanze di valore nutritivo molto superiore, cioè le proteine.

L'importanza del processo amilolitico non ha bisogno di essere rilevata: per esso, sostanze colloidi o insolubili, a struttura molecolare complessa, passano allo stato di sostanze cristallizzabili, molto più semplici, a peso molecolare infinitamente minore, facilmente solubili e diffusibili, vale a dire capaci d'essere agevolmente assorbite. S'è trovato, è vero, nel sangue della vena porta delle sostanze simili a destrina, dell'inulina, del saccarosio, del lattosio, ecc., ma in quantità piccolissima, e solo dopo un'ingestione straordinariamente

grande di queste sostanze. In regola generale, **gli amilacei sono tutti trasformati in glicosio, e in forma di glicosio attraversano la parete intestinale e passano nel sangue.**

3. — *ASSORBIMENTO ED ASSIMILAZIONE DEGL'IDRATI DI CARBONIO.*

§ 31. Gl'idrati di carbonio sono in generale molto bene assorbiti dall'intestino, tanto che nella dieta ordinaria, che ne contiene 200-400 gr., ne passano solo tracce nelle feci. Naturalmente, come per ogni altro alimento, la quantità assorbita è in ragione inversa della quantità di sostanza indigeribile con cui eran mescolati gl'idrati di carbonio, e in ragione diretta della digeribilità di essi. Così, per esempio, ingerendo

	si sottraggono			
pane di farina molto fine .	all'assorbimento	1,1 %	degl'idrati di	carbonio
pane di farina grossa . . .	»	2,6 »	»	»
pane di grani non tritati. .	»	7,4 »	»	»
polenta di patate	»	0,74 »	»	»
patate in pezzi	»	7,6 »	»	»
pane di segala	»	10,65 »	»	»

Abbiamo visto che gl'idrati di carbonio si riducono tutti in forma di monosaccaridi per essere assorbiti, e che probabilmente anche alcuni disaccaridi possono attraversare la parete intestinale. Però il loro assorbimento ha luogo con rapidità variabile.

Dalle ricerche di ALBERTONI, infatti, resulta:

1. Che molto considerevoli sono la rapidità e l'intensità di assorbimento del glicosio, poi che in 1 ora sono assorbiti gr. 60 di glicosio: ma nelle ore successive l'assorbimento è molto minore.

2. La rapidità e l'intensità d'assorbimento del maltosio e del saccarosio (come tali o come zucchero invertito?) sono assai grandi, molto più di quelle del glicosio, poi che in un'ora se ne assorbono circa gr. 70.

Secondo ALBERTONI, poi, l'assorbimento si verifica assai facilmente tanto per soluzioni più dense quanto, e anche meglio, per soluzioni meno dense del sangue; e la densità del liquido che resta nello stomaco è sempre inferiore a quella del sangue, ma superiore alla densità del plasma.

3. Il lattosio è assorbito in quantità molto minore, specialmente se s'introducono nell'intestino soluzioni più dense del sangue, vale a dire non più del 20-40 % al massimo. Un fatto degno di nota è che il volume del liquido residuale aumenta sempre, evidentemente perchè la soluzione di lattosio ha sottratto acqua al sangue.

In generale, però, l'assorbimento degl'idrati di carbonio ha luogo molto meglio se essi sono somministrati nella forma naturale di amido fine e ben cotto; giacchè, i monosaccaridi e disaccaridi, somministrati come tali, sia perchè sottraggono più o meno acqua al sangue, sia perchè scomponendosi in acidi grassi irritano la parete intestinale, producono, in gran quantità e a lungo andare, forti scariche diarroiche.

L'uomo può, in condizioni normali, assorbire senza difficoltà, circa 500 gr. d'idrati di carbonio.

Ma la portata dell'assorbimento è condizionata all'integrità del pancreas, che fornisce il fermento amilolitico. Cani privati del pancreas assorbono solo 57-71 % (MINKOWSKI e ABELMANN), o circa 47 % (CAVAZZANI) degli amilacei ingeriti.

In generale, gli zuccheri nell'attraversare la parete intestinale non subiscono modificazioni di sorta, benchè HALLIBURTON affermi che le cellule epiteliali di essa possano anche invertire una parte di maltosio.

Essi poi penetrano nelle vie sanguigne dei villi intestinali (solo in quantità minima possono anche entrare nelle vie linfatiche) e per la vena porta, giungono al fegato, come è dimostrato dal fatto che la legatura del dotto toracico non disturba minimamente l'assorbimento degl'idrati di carbonio, e dalle esperienze di v. MERING, il quale trovò che, dopo un pasto ricco di idrati di carbonio

la linfa del dotto toracico.	contiene	0,06-0,16 %	di glicosio
(la linfa di un cane digiuno.	»	circa idem	»)
il sangue della vena porta	»	0,4 %	»
(il sangue della vena porta e il sangue rimanente di un animale digiuno . . .	»	0,2 »	»).

Questo maggior contenuto del sangue portale in glicosio è, però, temporaneo e coincide con l'assorbimento degli zuccheri dall'intestino. Il glicosio assorbito, poi, sparisce come tale dal sangue, e non si trova nemmeno in altri organi, altro che in quella piccola quantità che fa parte, come costituente normale, di tutti i tessuti. Esso, trasformato in glicogene dal fegato, vi si accumula come materiale di riserva.

Prima di parlare, però, di questa trasformazione e di questo immagazzinamento del glicosio, è necessario rammentare che v'ha un limite non solo all'assorbimento, ma anche all'assimilazione del glicosio, detto da HOFMEISTER **limite d'assimilazione,** oltre il quale lo zucchero assorbito eccede tanto la potenzialità trasformatrice e immagazzinatrice del fegato e di altri organi, che passa nell'orina, producendo la **glicosuria alimentare.** Questo limite d'assimilazione varia con le diverse specie di zuccheri, con le diverse specie animali, coi diversi individui d'una stessa specie e finalmente con le condizioni in cui

lo stesso individuo può trovarsi. Degli zuccheri più comuni nell'alimentazione, il glicosio possiede il più alto, il lattosio il più basso limite d'assimilazione. Poi che la glicosuria alimentare è determinata dall'eccessiva quantità, assoluta o relativa, di zucchero nel sangue, non è maraviglia che nell'orina, in simili circostanze, compariscano oltre al glicosio, anche dei disaccaridi, che non trovarono il tempo di lasciarsi invertire; e che, ammessa l'impossibilità del totale passaggio dell'insolita quantità di zucchero, penetrata nella sostanza del villo, a traverso le pareti dei capillari nella corrente sanguigna, una parte di esso penetri anche nel linfatico centrale e possa esser dimostrata nella linfa del dotto toracico.

§ 32. Noi ci occuperemo più specialmente della glicogenesi epatica, quando tratteremo del fegato.

Qui dobbiamo ricordare alcuni principii più generalmente ammessi intorno alla **formazione, all'assimilazione degli idrati di carbonio nell'organismo animale.**

Ma, prima ancora di occuparci in modo speciale di questo argomento, è necessario ricordare alcuni resultati recentemente ottenuti da FISCHER, CREMER ed altri circa i rapporti esistenti fra le varie proprietà degli zuccheri di fermentare, di polimerizzarsi in glicogene, ecc., in connessione con la loro struttura e configurazione e con le speciali proprietà dei vari enzimi.

Abbiamo detto che dei monosaccaridi sono capaci di fermentare solamente quelli che hanno tre atomi di C nella loro molecola, o un numero di atomi multiplo di tre. Fermentano dunque il glicerosio, gli exosi, i nonosi; gli altri no. Ma anche fra gli exosi, per es., fermentano solo quelli che hanno una certa affinità col glicosio. Ciò dimostra che **non la sola struttura molecolare del saccaride, ma anche la speciale configurazione della sua molecola determina le sue proprietà, e particolarmente le sue proprietà fisiologiche** (FISCHER).

La stessa importanza hanno la struttura e configurazione molecolare degli zuccheri sulla loro proprietà di trasformarsi in glicogene. Dalle ricerche di VOIT, di CREMER e di FRENTZEL resulta infatti che **gli zuccheri capaci di subire in presenza del lievito di birra una fermentazione alcoolica sono anche i veri formatori di glicogene, mentre gli zuccheri incapaci di fermentare non sono nemmeno atti a formar glicogene** (CREMER).

Anche la capacità che hanno i vari zuccheri di passare nell'orina dipende, come le proprietà anzidette, dalla loro struttura e configurazione molecolare: **gli zuccheri più facilmente fermentescibili passano più difficilmente, quelli non fermentescibili più agevolmente nell'orina** (CREMER).

E finalmente, secondo CREMER, anche nella proprietà degli zuccheri di formar grasso nell'organismo animale, probabilmente entra

in giuoco la loro configurazione molecolare. Anche qui si osserva che **gli zuccheri più facilmente fermentescibili sono i migliori formatori di grasso**; e già LIEBIG stabilì un parallelo fra la fermentazione degli zuccheri e la formazione per sintesi dei grassi.

Quattro proprietà fisiologiche importantissime degli zuccheri, dunque: la proprietà di fermentare, di trasformarsi in glicogene e in grasso nell'organismo animale, e di essere più o meno energicamente ritenuti nel corpo o espulsi per l'orina — sembrano avere intima analogia fra loro ed essere in stretta dipendenza dalla struttura e configurazione molecolare degli zuccheri.

Interessante è il fatto, che gli stessi microrganismi del lievito di birra sono capaci di formare e immagazzinare nel loro corpo una sostanza, che sembra identica al glicogene degli animali (ERRERA, SALKOWSKI, CREMER). E questo glicogene sparisce durante il digiuno tanto dalle cellule epatiche come dalle cellule del lievito di birra, in queste ultime per ciò in conseguenza di una specie di autofermentazione. Ora l'importanza di questa scoperta di L. ERRERA sta in ciò, che noi abbiamo così un mezzo assai comodo per indagare quali zuccheri son capaci di trasformarsi in glicogene e quali no. È stato, infatti, così dimostrato che il glicosio, il d-levulosio, il d-galattosio (LAURENT), il d-mannosio (CREMER) possono formare glicogene.

Forse **tutti gli zuccheri, prima d'essere trasformati in glicogene o di fermentare o d'essere trasformati in grasso, sono convertiti in glicosio.** Il glicosio sarebbe, in altre parole, secondo una seducente ipotesi di CREMER, l'unica vera sostanza fermentescibile, l'unica sostanza che polimerizzandosi possa dar glicogene, sia che ciò avvenga nella cellula epatica o nella cellula del lievito di birra. Ma perchè ciò si verifichi, è necessario ammettere una trasformazione dei diversi zuccheri in glicosio per opera della cellula vivente. A questo proposito PERCY FRANKLAND dice, non poter ritener come verisimile che uno stesso microrganismo trasformi sostanze diverse in un prodotto unico, mentre è molto più probabile che esse siano prima convertite, per semplici cangiamenti stechiometrici e configurativi, in una sostanza unica — il glicosio — la quale poi, per disidratazione si trasformerebbe, polimerizzandosi, in glicogene. Esempi di questi passaggi di mono- e disaccaridi da una forma in un'altra non mancano, infatti, nel regno vegetale e animale; e molti studiosi presentemente sono dietro a indagare il meccanismo di simili trasformazioni.

§ 33. Il processo della trasformazione del glicosio in glicogene non ha luogo solamente nel fegato, ma anche nei muscoli e in altri organi. e anzi fino a un certo periodo della vita embrionale gli altri organi e tessuti contengono glicogene, prima ancora che se ne possa di-

mostrare nel fegato. In seguito, però, i muscoli, e sopratutto il fegato, assumono quasi esclusivamente la funzione di immagazzinare lo zucchero in forma di glicogene.

Nei muscoli, KUELZ dimostrò un aumento del glicogene in seguito a iniezioni sottocutanee di zucchero, anche nelle rane private del fegato.

Tale processo di trasformazione non differisce da quello per cui, nelle piante, gl'idrati di carbonio sono trasformati e si accumulano in forma di amido. È un processo di polimerizzazione della molecola di glicosio, con simultanea cessione di H^2O, oltremodo efficace, perchè un materiale momentaneamente sovrabbondante nel sangue, e tale che per la sua instabilità e diffusibilità potrebbe troppo facilmente andar perduto per l'organismo, venga invece accumulato in una forma poco solubile e non diffusibile, per poi esser nuovamente ceduto o trasformato altrimenti in grasso, secondo i bisogni futuri dell'organismo. In altre parole, questo processo di polimerizzazione del glicosio sottrae al sangue un materiale inutile nella sua eccessiva quantità e dannoso, e che sarebbe inevitabilmente destinato ad essere eliminato per i reni, a fine di conservarlo a disposizione dell'organismo in una forma, direi quasi, concentrata ed innocua.

Sembra, come abbiamo detto, che, in via generale, le cellule epatiche possano trasformare in glicogene solamente il glicosio, e che, sotto qualunque altra forma gl'idrati di carbonio siano somministrati, essi siano sempre prima trasformati in glicosio e poi in glicogene. E glicosio è anche sempre lo zucchero che si forma nel processo opposto di scomposizione del glicogene epatico o muscolare; poichè il glicosio sembra essere il monosaccaride più adatto al metabolismo della massima parte degli animali. Tuttavia è stato dimostrato che anche in seguito alla somministrazione di levulosio si accumula glicogene nel fegato; ma non si può dire se le cellule epatiche abbiano bisogno e siano capaci di trasformare il gruppo chetonico del levulosio nel gruppo aldeidico del destrosio, prima di polimerizzare quel monosaccaride, o se possono fabbricar glicogene direttamente dal levulosio. Somministrando direttamente (per iniezione nel sangue) disaccaridi non inverti e anche galattosio, non si osserva formazione di glicogene nel fegato.

I diversi pentosi (ramnosio, xilosio, arabinosio), secondo alcune precedenti osservazioni di CREMER e SALKOWSKI, potrebbero anche essere utilizzati dalle cellule epatiche alla formazione del glicogene (nei conigli e nei polli); ma FRENTZEL non potè dimostrarla in conigli prima intossicati con stricnina e poi nutriti con xilosio.

Degli exosi, il galattosio sembra affatto incapace ad accumularsi in forma di glicogene; ma ciò potrebbe derivare in parte dalla sua minore analogia col glicosio e in parte anche dal suo lento assorbimento.

Altre sostanze che, ingerite, aumentano il glicogene epatico sono: la glicerina, l'arbutina (un glicoside), l'eritrite, la quercite, la dulcite, la mannite, l'inosite, l'etilenglicol, il propilenglicol, l'anidride dell'acido glicoronico, l'acido zuccherico, l'acido mucico, il tartrato sodico, la saccarina, l'isosaccarina, l'urea, la glicocolla, l'asparagina, alcuni sali ammoniacali e alcune amidi, certi narcotici. ipnotici e antipiretici. Tutte queste sostanze agiscono o perchè sono utilizzate direttamente nella formazione del glicogene, o perchè risparmiano quello già immagazzinato.

Per quanto riguarda gli acidi amidati (glicocolla, asparagina) e i sali ammoniacali degli acidi organici, si sa che, mentre favoriscono la formazione del glicogene, il loro N si ritrova quasi tutto nell'orina allo stato di urea. La glicocolla, che può resultare dalla disassimilazione delle proteine, potrebbe forse trasformarsi, nelle cellule epatiche, in glicosio secondo questa equazione (GAUTIER):

$$\underbrace{4\,C^2H^5NO^2}_{\text{(glicocolla)}} = \underbrace{C^6H^{12}O^6}_{\text{(glicosio)}} + \underbrace{2\,CON^2H^4}_{\text{(urea)}}.$$

Tanto nel fegato, come nei muscoli il glicogene trovasi depositato entro gli elementi morfologici in goccioline o in forma più o meno diffusa (ved. LA CELLULA).

Ma il glicogene si forma principalmente quando lo zucchero entrato nel sangue incontra nella sua circolazione come primo organo il fegato, provenga esso dal contenuto intestinale o sia iniettato nel sistema vasale che mette capo nella vena porta. Se, invece, penetra nella linfa, o direttamente nel circolo generale, sì che nella sua via esso incontri i reni, prima di poter passare per il fegato, esso viene in massima parte eliminato, e solo in piccola parte è trasformato in glicogene e immagazzinato nei muscoli e nel fegato. Il sangue si scarica rapidissimamente del minimo eccesso di zucchero per il primo emuntorio che attraversa.

Anche nel sangue si trovano tracce di glicogene (gr. 0,005-0,01 %. HUPPERT); ma trattasi del glicogene contenuto normalmente dai leucociti, poichè, come vedremo subito, il trasporto degl'idrati di carbonio dal loro deposito, il fegato, agli altri organi si fa solamente in forma di glicosio.

Il fegato è dunque il principale regolatore del contenuto in zucchero del sangue; e questa regolazione è talmente perfetta, che il contenuto del sangue in zucchero può dirsi costante, ed è indipendente da qualsiasi altra condizione fisiologica dell'organismo.

Ma anche nel digiuno più inoltrato, durante il quale il deposito di glicogene viene man mano esaurendosi, il fegato e i muscoli contengono pur sempre piccole quantità di glicogene. Questo, detto da KUELZ « glicogene residuale », è stato sempre ritenuto come un resto

di quello accumulatosi nei giorni di buona nutrizione; ma può anche significare che la formazione di glicogene non si arresti completamente mai. Il materiale, a spese del quale tale formazione di glicogene nel digiuno si farebbe, sarebbero il resto non azotato della molecola proteica disintegrantesi nell'incessante metabolismo organico e il grasso. Di questa possibilità tratteremo più diffusamente, quando parleremo del metabolismo dei grassi e delle sostanze proteiche. Qui dobbiamo solamente aggiungere che sede di queste trasformazioni sarebbe sempre principalmente il fegato, e che molto probabilmente i grassi passano per lo stato di glicosio e glicogene prima di essere utilizzati dai tessuti, essendo poco verisimile che il grasso venga insolitamente adoperato per sè stesso come sorgente d'energia (ved. NOORDEN); e che anche il resto non azotato delle sostanze proteiche passerebbe, forse, per lo stadio di glicosio, prima di essere trasformato e accumulato come glicogene (CREMER).

Per contro, se l'assimilazione giornaliera degl'idrati di carbonio va tanto oltre da coprire e superare i bisogni attuali dell'organismo, fino a riempire in forma di glicogene tutti i magazzini di deposito di questa sostanza, l'eccesso si trasforma in grasso, tanto negli erbivori quanto nei carnivori, vale a dire s'immagazzina sotto altra forma. Ciò è provato dal fatto che, in giovani animali nutriti con proteine e idrati di carbonio, il C accumulatosi in forma di grasso supera quello che poteva derivare dal resto non azotato della sostanza proteica, anche ammesso tale trasformazione abbia luogo e che quel resto si sia tutto depositato in forma di grasso. Ma probabilmente tutto il grasso depositatosi, in queste circostanze, deriva dagl'idrati di carbonio introdotti in eccesso; e propriamente, secondo PFLUEGER, senza perdita di energia potenziale, poichè 256 gr. di glicosio somministrato ad un animale in più del bisogno si trasformano in 100 gr. di grasso, ossia in una quantità isodinama di grasso.

Non si sa dove tale trasformazione abbia luogo; ma certamente essa è dovuta a una funzione cellulare, e forse avviene *in situ*, nelle cellule connettivali risvegliate a nuovo lavoro.

§ 34. Notevole è la quantità di glicogene che l'organismo è capace di fabbricare e accumulare. Furono osservate le seguenti **quantità di glicogene nel fegato** di diversi animali alimentati prevalentemente con sostanze amilacee:

Cane	17 %	(PAVY)
Coniglio	17-27 %	(id.)
Polli	12,8-14,7 %	(TSCHERINOFF).

Calcolando che il fegato umano possa contenere in simili condizioni 10 % di glicogene, e che esso pesa in media 1500 gr., si avrebbero circa 150 gr. di glicogene epatico. Altrettanti si trovano, forse,

nei muscoli e negli altri organi. Così che l'uomo, nutrito abbondantemente con idrati di carbonio, potrebbe contenere *in toto* fino a 300 gr. di glicogene (NEUMEISTER).

§ 35. Il glicogene e gl'idrati di carbonio in generale non derivano solamente dagli idrati di carbonio assorbiti. Essi possono formarsi e immagazzinarsi nell'organismo di un animale nutrito esclusivamente con sostanze proteiche o albuminoidi (CL. BERNARD, VON MERING, NAUNYN).

SEEGEN ha creduto di aver dimostrato una trasformazione del peptone in glicosio, anche *in vitro*, sotto l'influenza delle cellule epatiche, e LÉPINE ha confermato l'osservazione di SEEGEN. Il GAUTIER anzi afferma recisamente che « i peptoni iniettati nella vena porta dànno dello zucchero attraversando il fegato di recente estirpato ».

La produzione di glicosio e glicogene a spese delle sostanze proteiche non è però un fenomeno speciale del fegato, ma proprio delle cellule dell'economia, come dimostra il fatto che il glicogene e i suoi isomeri o polimeri si producono e si depositano in moltissime specie cellulari: cellule e fibre muscolari in riposo, in cui il glicogene si riproduce, dopo la fatica, sia o no presente il fegato nell'organismo; infusori ciliati; cellule spleniche e renali (CARTER); cellule epiteliali della placenta e cellule dell'epidermide giovane (ROUGET); tuorlo d'ovo, dove si cambia poi in zucchero, ecc. Anche qui, CREMER accenna, come abbiamo detto, alla possibilità che i prodotti di scissione delle sostanze proteiche, prima di convertirsi in glicogene, passino per lo stadio di glicosio.

Ormai nessuno più dubita che idrati di carbonio si formano anche in seguito alla scomposizione dei grassi neutri depositati nell'organismo (ved. appresso: I GRASSI).

Così che ci sembra di poter affermare con tutta sicurezza che la formazione degli idrati di carbonio è una delle funzioni più generali delle cellule viventi, ad assicurare la quale molteplici meccanismi coesistono o possono entrare in giuoco a vicenda.

§ 36. Ma **come si forma il glicogene** nelle cellule dell'economia? Abbiamo detto per un processo di polimerizzazione della molecola del glicosio, con simultanea cessione di H^2O: questa va sotto il nome di **teoria dell'anidride.** Ma non può esser questo l'unico processo di fabbricazione del glicogene, perchè esso si forma anche dalle proteine, dagli albuminoidi, ecc. Per ciò molti osservatori credettero che, invece, tutto il glicogene si formasse dalle sostanze proteiche. per un processo di sintesi che si svolgerebbe in seguito alla scissione della molecola proteica e a spese dei prodotti di questa scissione (PFLUEGER), e che gl'idrati di carbonio dell'alimentazione non servissero che a risparmiare il glicogene in quel modo formatosi: questa fu detta la **teoria del risparmio** (WEISS, WOLFFBERG ed A.).

Noi riteniamo che il primo e il secondo modo di formazione del glicogene si verificano: il primo prevalentemente in condizioni ordinarie, vale a dire in presenza d'idrati di carbonio in abbondanza nell'alimentazione, il secondo in condizioni opposte.

La sede di questi processi chimici sarebbe poi il protoplasma delle cellule viventi; sì che **la formazione del glicogene, per ora, dev'esser considerata come l'espressione di una funzione cellulare anabolica, comune a tutti i tessuti fino ad una certa epoca dello sviluppo, localizzantesi principalmente nel fegato e nei muscoli nella vita ultraembrionale.**

4. — *PRODOTTI CATABOLICI DEGLI IDRATI DI CARBONIO.*

§ 37. Sia che gl'idrati di carbonio compariscano come prodotti sintegrazione delle sostanze proteiche, sia che derivino direttamente dall'alimentazione o dalla scissione dei grassi, essi sono sempre destinati a scomparire in breve tempo, poichè essi « rappresentano le provvisioni di calore e d'energia latenti di cui le cellule dispongono immediatamente (GAUTIER) ».

Il glicogene si scompone novamente per opera d'una funzione cellulare speciale ed ignota nella sua essenza, per un processo di fermentazione intracellulare, in glicosio, secondo i bisogni dinamici degli organi, in cui più vivo è il metabolismo, e ai quali vien trasportato dal sangue. Così dallo stato di materiale di riserva passa in quello di materiale direttamente utilizzabile.

Come esso serve al metabolismo organico, come e dove le sue energie potenziali si estrinsecano in energie attuali (lavoro, calore), non è il caso qui di discutere; e però ne diciamo solo quanto basta a chiarire il metabolismo degl'idrati di carbonio.

Ma prima bisogna chiarire, per quanto è possibile allo stato attuale della scienza, come tale scomposizione si fa e per opera di quali forze. Due ipotesi qui possono essere avanzate e furono infatti emesse e sostenute da vari osservatori: 1.° la formazione del glicosio è una funzione puramente cellulare; 2.° essa è dovuta all'azione d'uno speciale enzima, analogo agli enzimi diastatici e amilolitici. La prima fu emessa da CL. BERNARD, dopo che egli ebbe osservato che nel fegato estratto dall'organismo continuava la trasformazione del glicogene in zucchero. La seconda che spiega questa trasformazione fu sostenuta principalmente da ARTHUS e HUBER, ed è fondata sul fatto che nel sangue e nella linfa si trova un enzima diastatico.

Infatti una parte del glicosio proveniente dall'alimentazione o dalla trasformazione del glicogene immagazzinato nei tessuti, sparisce nel sangue. Un chilogramma di sangue di cane fa scomparire, *in vitro*

e alla temperatura di 38° C., in 24 ore, fino a 8 grammi di glicosio per opera del fermento glicolitico ch'esso contiene (BERNARD, LÉPINE).

Tuttavia bisognerà ammettere che questa trasformazione enzimatica non rappresenti la parte principale del processo, nell'organismo vivente, e che la glicogenesi sia anch'essa una funzione cellulare. Ma su ciò torneremo a proposito del FEGATO.

Grande è la labilità dei depositi di glicogene e del glicosio che si forma da questo, poi che essi sono i primi a diminuire o scomparire nell'organismo, per cause molteplici e relativamente in parte lievi.

Il raffreddamento, il digiuno, le malattie, specialmente le febbrili, il lavoro muscolare, un certo numero di veleni (P, As, C O, nitrito d'amile, nitrobenzolo, curare, stricnina), lo stato asfittico del sangue, le lesioni più svariate del sistema nervoso centrale e periferico (dalla puntura del quarto ventricolo di CL. BERNARD alla lesione dei nervi viscerali), ecc.: tutte queste sono cause di distruzione del glicogene.

Per contro si conoscono ora alcune sostanze che, introdotte nell'organismo, specialmente per la via del tubo digerente, valgono a risparmiare il glicogene già immagazzinato. Tali sono: la glicerina e il carbonato ammonico. Ma non si conosce sufficientemente il meccanismo della loro azione, benchè sembri probabile che la prima eserciti una vera azione inibitrice sulle cellule epatiche, vale a dire inibisca la funzione glicogenica del loro protoplasma (RANSOM), e che il secondo ecciti così intensamente quella funzione epatica, per cui il $(NH^4)^2 CO^3$ è trasformato in urea, da non lasciar posto alla funzione glicogenica (NEUMEISTER).

§ 38. I prodotti finali della disintegrazione ossidativa degl'idrati di carbonio sono l'CO^2 e l'H^2O.

Ma non conosciamo per quali stati intermedi si giunga a queste ultime espressioni del catabolismo degli zuccheri. Sappiamo, in vero, che nell'organismo si trovano anche, o allo stato libero o legati in combinazioni diverse, per esempio, negli ureidi, dell'acido lattico, dell'acido butirrico, e forse anche succinico, glicocolico, ossalico. Ora queste sostanze compariscono di solito per l'azione dei fermenti figurati sugl'idrati di carbonio. Sarebbe per ciò verisimile che le cellule dell'economia operassero anche trasformazioni simili a queste indicate.

Secondo alcuni (HOPPE-SEYLER) il glicosio, prima di ossidarsi definitivamente, si trasformerebbe nel muscolo in acido lattico: vale a dire, la disintegrazione ossidativa sarebbe preceduta da una semplice decomposizione. Ciò indicava i muscoli come sede principale del metabolismo degl'idrati di carbonio. E infatti si sa con tutta sicurezza: 1.° che il lavoro muscolare è congiunto con un consumo di glicogene (glicogene muscolare ed epatico); 2.° che il sangue che affluisce al muscolo lavorante è più ricco in idrati di carbonio del

sangue che ne esce, come dimostrano le ricerche di CHAVEAU e KAUFMANN, i quali trovarono che

1 Kgr. di muscolo consuma nel riposo . .	gr. 0,03644	di glicosio
» » consuma lavorando . .	» 0,14027	»

Ma per giudicare con sicurezza se veramente il muscolo lavora a spese degl'idrati di carbonio, sarebbe necessario conoscere tutti i prodotti intermedi della loro disintegrazione semplice e ossidativa. Noi invece sappiamo solamente che là dove c'è consumo d'idrati di carbonio c'è anche produzione di CO^2. Gli stessi CHAVEAU e KAUFMANN infatti osservarono che

1 Kgr. di muscolo produce nel riposo . .	gr. 0,00684	di CO^2
» » produce lavorando . .	» 0,24577	»

Ben lontani siamo poi dal poter dire quanto del glicosio scomparso s'è trasformato in energia calorica e quanto in lavoro utile.

Non si può finalmente escludere in modo assoluto che il glicosio possa anche scomporsi in CO^2 e alcool, come nella fermentazione ordinaria (HOPPE-SEYLER e RAJEWSKI). Infatti molti credono che si trovi sempre una traccia di alcool nel muscolo normale.

III. — Bibliografia degli idrati di carbonio.

(116) 1841. TROMMER. *Ann. Chem. u. Pharm.*, Bd. XXXIX, pag. 360.
(117) 1844. MOORE. *The Lancet*, pag. 11.
(118) 1844. HELLER. *Arch. f. mikr. Chem.*, Bd. 1, pag. 292.
(119) 1845. SCHMIDT C. *Zur vergleichenden Physiologie der wirbellosen Thiere.* Braunschweig.
(120) 1853. BERNARD CL. *Nouvelle fonction du foie considéré comme organe producteur de matière sucrée chez l'homme et les animaux.* Paris, Baillière.
(121) 1855-57. BERNARD CL. *Leçons de physiol. expérimentale*, ecc. Vol. I-IV, Paris.
(122) 1857. Id. *Sur le mécanisme physiologique de la formation du sucre dans le foie.* Compt. rend., vol. XLIV, pag. 578-586.
(123) 1857. Id. *Remarques sur la formation de la matière glycogène du foie.* Ibid., pag. 1325-1331.
(124) 1857. HENSEN. *Virchow's Arch.*, Bd. XI, pag. 395.
(125) 1857. BÖTTGER. *Zeitschr. f. prakt. Chem.*, Bd. LXX, pag. 432.
(126) 1858. PASTEUR L. *Mémoire sur la fermentation de l'acide tartrique.* Compt. rend., vol. XLVI, pag. 615-618.
(127) 1859. BERNARD CL. *Sur une nouvelle fonction du placenta.* Compt. rend., vol. XLVIII, pag. 77-86.
(128) 1859. Id. *De la matière glycogène considérée comme condition de développement de certains tissus, chez le foetus, avant l'apparition de la fonction glycogenique du foie.* Compt. rend., tom. XLVIII, pagina 673 684.

(129) 1859. Rouget Ch. *Des substances amylacées dans les tissus des animaux, spécialement des Articulés (chitine).* Compt. rend., tom. XLVIII, pag. 792-795.
(130) 1860. Pasteur L. *Note relative au Penicillium glaucum et à la dyssimétrie moléculaire des produits organiques naturels.* Compt. rend., vol. LI, pag. 298-299.
(131) 1863. De Luca M. S. *Sur la transformation en sucre de la peau des serpents.* Compt. rend., tom. LVII, pag. 437-440.
(132) 1863. Pasteur L. *Nouvel exemple de fermentation déterminée par des animalicules infusoires pouvant vivre sans gaz oxygène libre, et en dehors de tout contact avec l'air de l'atmosphère.* Compt. rend., vol. LVI, pag. 416-421.
(133) 1864. Gallois. *De l'inosurie.* Thesis, Paris.
(134) 1865. Kuenhe W. *Ueber das Vorkommen zuckerbildender Substanzen in pathologischen Neubildungen.* Virchow's Arch., Bd. XXXII, pagina 536-542.
(135) 1869. Nasse O. *Beiträge zur Physiologie der contractilen Substanz.* Pflüger's Arch., Bd. II, pag. 97-120.
(136) 1870. Weiske. *Ueber die Verdaulichkeit der Cellulose beim Menschen.* Zeitschr. Biol., Bd. VI, pag. 456.
(137) 1871. Bruecke E. *Eine neue Methode Dextrin und Glycogen aus thierischen Flüssigkeiten und Geweben abzuscheiden, und über einige damit erlangte Resultate.* Sitzungsber. Wien. Akad., Bd. LXIII, pag. 214.
(138) 1874. Kuelz. *Beiträge zur Pathologie und Therapie des Diabetes.* Marburg.
(139) 1874. Salomon G. *Der Glycogengehalt der Leber beim neugeborenen Kinde.* Centr. med. Wiss., pag. 738-741.
(140) 1875. v. Mering. *Nitrobenzolvergiftung bewirkt keine Zuckerausscheidung im Harn.* Centr. f. med. Wiss., n. 55, pag. 945-946.
(141) 1875. Moriggia. *Alcune esperienze intorno al glucosio nell'organismo animale, e più specialmente nel periodo della vita intrauterina.* Centr. med. Wiss., pag. 154, e R. Accad. d. Lincei. III, 9 febbr. 1873.
(142) 1875. Kuelz E. *Ueber das Auftreten von Inosit im Kaninchenharn.* Centr. f. medic. Wiss., pag. 932-933.
(143) 1875. Hesse. *Ann. d. Chem.* Bd. CLXXVI, pag. 98.
(144) 1875. Scheibler. *Jahresber. f. chem. Techn.*, pag. 790.
(145) 1876. Loiseau D. *Sur une nouvelle substance organique cristallisée.* Compt. rend., vol. LXXXII, pag. 1058-1060.
(146) 1877. Drosdorff. *Chemische Analyse des Blutes*, ecc. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, pag. 233.
(147) 1877. v. Mering. *Ueber die Abzugswege des Zuckers aus der Darmhöhle.* Arch. f. Phys., pag. 379.
(148) 1877. Tollens B. *Ueber die specifische Drehung des Rohrzuckers.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. X, pag. 1414.
(149) 1878. Jaffe M. *Zur Kenntniss der synthetischen Vorgänge im Thierkörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, pag. 47-64.
(150) 1878. Ledderhose G. *Ueber Chitin und seine Spaltungsprodukte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, pag. 213-227.
(151) 1878. v. Mering e Musculus. *Ueber die Einwirkung von Speichel-und Pancreasferment auf Glycogen und Stärke.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, pag. 395.
(152) 1879. Bleile. *Ueber den Zuckergehalt des Blutes.* Arch. f. Phys., pag. 95.
(153) 1879. Bernard Cl. *Leçons sur les phénomènes de la vie*, ecc., vol. II. Paris.
(154) 1879. Salkowski E. *Ueber die Verbindungen des Traubenzuckers mit Kupferoxydhydrat.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, pag. 79-97.
(155) 1879. Schmiedeberg O. *Ueber ein neues Kohlehydrat.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, pag. 112-133.
(156) 1879. Maydl K. *Ueber die Abstammung des Glykogens.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, pag. 186-199.
(157) 1879. Demant B. *Beitrag zur Lehre über die Zersetzung des Glycogens in den Muskeln.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, pag. 200-204

(158) 1879. FRANCHIMONT A. P. N. *Sur la glucose.* Compt. rend., tom. LXXXIX, pag. 713.
(159) 1879. Id. *Ueber Kohlenhydrate.* I° Mitth. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XII, pag. 1938-1942.
(160) 1879. MUSCULUS F. e GRUBER D. *Ein Beitrag zur Chemie der Stärke.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, pag. 177-190.
(161) 1879. MUSCULUS e v. MERING. *Ueber die Umwandlung von Stärke und Glycogen durch Diastase, Speichel, Pancreas und Leberferment.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, pag. 403-419.
(162) 1880. v. DEN VELDEN. *Ueber die Wirksamkeit des Mundspeichels im Magen.* Deutsch. Arch. klin. Med., Bd. XXV, pag. 105.
(163) 1880. SOTNITSCHEWSKI. *Ueber die Zusammensetzung des Lungengewebes bei croupöser Pneumonie.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 217-221.
(164) 1880. MEISSL E. *Das spec. Drehungsvermögen der Lactose.* Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXII, pag. 97.
(165) 1880. BROWN e HERON. *Beiträge zur Geschichte der Stärke, etc.* Liebig's Ann., Bd. CXCIX, pag. 165-253.
(166) 1880. KRUKENBERG. *Vergleichend-physiologische Studien.* Bd. II, pag. 52.
(167) 1880. MUSCULUS e v. MERING. *Ueber die Umwandlung der Stärke und des Glykogens durch diastatische Fermente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, pag. 93-97.
(168) 1880. LEDDERHOSE G. *Ueber Glykosamin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, pag. 139-159.
(169) 1880. SCHMÖGER M. *Eine bis jetzt noch nicht beobachtete Eigenschaft des Milchzuckers, und dessen Drehungsvermögen.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIII, pag. 1915, 2130 e 1922.
(170) 1880. MUSCULUS F. e MEYER A. *Ueber Erythrodextrin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, pag. 451-454.
(171) 1881. SUNDWIK E. E. *Zur Constitution des Chitins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, pag. 384-394.
(172) 1881. v. MERING. *Ueber den Einfluss diastatischer Fermente auf Stärke, Dextrin und Maltose.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, pag. 185-197.
(173) 1881. JUNGFLEISCH e LEFRANC. *Sur le lévulose.* Compt. rend., tom. XCIII, pag. 547-550.
(174) 1881. SUNDWIK E. E. *Ueber die specifische Drehung der Maltose.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd, V, pag. 427-430.
(175) 1881. MUSCULUS F. e MEYER A. *Dextrin aus Traubenzucker.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, pag. 122-126.
(176) 1881. KRUKENBERG C. FR. W. *Vergleichend-physiologische Studien.* Winter, Heidelberg.
(177) 1882. HUPPERT. *Vorkommen von Glykogen in Blut.* Centr. Phys., pag. 394.
(178) 1882. DETMER. *Ueber den Einfluss der Reaction Amylum sowie Diastase enthaltendender Flüssigkeiten auf den Verlauf des fermentativen Processes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, pag. 1-6.
(179) 1882. LEUBE. *Umwandlung des Rohrzuckers in Traubenzucker.* Congr. f. innere Medic., pag. 150.
(180) 1882. LANDWEHR H. A. *Untersuchungen über das Mucin von Helix pomatia und ein neues Kohlenhydrat (Achrooglycogen) in der Weinbergschnecke.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, pag. 75-78.
(181) 1882. TAPPEINER H. *Vergleichende Untersuchung der Darmgase.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, pag. 432-479.
(182) 1883. KRUKENBERG C. FR. W. *Ueber die Hyaline.* Würzburg.
(183) 1883. Id. *Chondrin und Chondroitsäure.* Sitzungsber. d. Würzburger physik. med. Ges.
(184) 1883. LANDWEHR H. A. *Ein neues Kohlehydrat (thierisches Gummi) im menschlichen Körper.* Zeitschr. phys. Chem., Bd. VIII, p. 122-128.
(185) 1883. FAULENBACH C. *Zur Bestimmung der Stärke und des Traubenzuckers in Nahrungsmitteln, mittelst Fehling'scher Lösung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, pag. 510-522.
(186) 1883. RUBNER. *Vertretungswerthe der organischen Nahrungsstoffe.* Zeitschr. Biol., Bd. XIX, pag. 352.

(187) 1884. NYLANDER E., *Ueber alkalische Wismuthlösung als Reagens auf Traubenzucker im Harne.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, pag. 175-185.
(188) 1884. DASTRE A. e BOURQUELOT E. *De l'assimilation du maltose.* Compt. rend., tom. XCVIII, pag. 1604-1607.
(189) 1884. FISCHER E. *Phenylhydrazin als Reagens auf Aldehyde und Ketone.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVII, pag. 572-578.
(190) 1884. TIEMANN F. *Einiges über den Abbau von salzsaurem Glucosamin.* Ber. deutsch. chem. Gesell., Bd. XVII, pag. 241-251.
(191) 1884. TAPPEINER H. *Unters. über die Gährung der Cellulose.* Zeitschr. Biol., Bd. XX, pag. 52.
(192) 1884. WORM-MUELLER. *Die Ausscheidung des Zuckers im Harne des gesunden Menschen nach Genuss von Kohlenhydraten.* Pflüger's Arch., Bd. XXXIV, pag. 576-595.
(193) 1884. TOLLENS B. *Ueber die Circularpolarisation des Rohrzuckers.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVII, pag. 1751-1758.
(194) 1884. LANDWEHR H. A. *Eine neue Methode zur Darstellung und quantitativen Bestimmung des Glykogens in thierischen Organen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, pag. 165-174.
(195) 1884. KRUKENBERG C. FR. W. Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. II, p. 307.
(196) 1885. v. KNIERIEM. *Ueber die Verwerthung der Cellulose im thierischen Organismus.* Zeitschr. Biol., Bd. XXI, pag. 67.
(197) 1885. WORM-MUELLER. *Die Ausscheidung des Zuckers im Harne nach Genuss von Kohlenhydraten bei Diabetes mellitus.* Pflüger's Arch., Bd. XXXVI, pag. 172-208.
(198) 1885. FLUECKIGER M. *Untersuchungen über die Kupferoxyd reducirenden Substanzen des normalen Harnes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, pag. 323-353.
(199) 1885. GUBBE O. *Ueber das optische Drehungsvermögen des Invertzuckers.* In Dissert., Berlin. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVIII, p. 2210.
(200) 1885. KRUKENBERG C. FR. W. *Ueber das Vorkommen des Chitins.* Zool. Anz., n. 199, pag. 402-415.
(201) 1885. HALLIBURTON W. D. *Note on the chemical composition of the Zoocytium of Ophrydium versatile.* Quart. Journ. of micr. sc. (N. S.), vol. XXV, July, pag. 445-448.
(202) 1885. KRUKENBERG. *Ueber das Conchiolin und über das Vorkommen des Chitins bei Cephalopoden.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVIII, pag. 989.
(203) 1886. MAUPAS E. *Sur les granules amylacés du cytosome des Grégarines.* Compt. rend., tom. CII, pag. 120-123.
(204) 1886. THIERFELDER H. *Ueber die Glycuronsäure.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIX, pag. 3148.
(205) 1886. THIERFELDER H. *Ueber die Bildung von Glykuronsäure beim Hundgerthier.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, pag. 163-169.
(206) 1886. HOPPE-SEYLER F. *Ueber Gährung der Cellulose mit Bildung von Methan und Kohlensäure.* Zeitschr. phys. Chem., Bd. X, p. 201-217.
(207) 1886. TIEMANN F. *Ueber Glucosamin.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIX, pag. 49-53.
(208) 1886. FISCHER E. *Ueber Isoglucosamin.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIX, pag. 1920-1924.
(209) 1886. SCHEIBLER. *Beitrag zur Kenntniss der Melitriose (Raffinose), ecc.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XIX, pag. 2863.
(210) 1886. KUELZ. *Zur quantitativen Bestimmung des Glykogens.* Zeitschr. Biol., N. F., Bd. IV, pag. 191.
(211) 1886. BOURQUELOT. *Rech. sur les propr. phys. de la maltose.* Journ. An. et Phys., vol. XXII, pag. 161.
(212) 1886. BUDDE. *Die quantitative Bestimmung von Traubenzucker im Harne nach Robert's Methode.* Pflüger's Arch., Bd. XL, pag. 137-171.
(213) 1886. KRUKENBERG C. FR. W. *Die angebliche Löslichkeit des Chitins.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. IV, pag. 480-488.

(214) 1887. NASSE O. e KRUEGER A. *Ueber das Aussalzen der Eiweisskörper und anderer kolloïder Substanzen.* Pflüger's Arch., Bd. XLI, pag. 504.
(215) 1887. MYLIUS F. *Ueber die blaue Jodstärke.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XX, pag. 688-695.
(216) 1887. LIEBERMANN L. *Thierisches Dextan, ein neuer gummiartiger Stoff in den Excrementen einer Blattlaus.* Pflüger's Arch., Bd. XL, pagina 454-458.
(217) 1887. KUELZ E. *Zur Kenntniss des Indischgelb und der Glycuronsäure.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXIII, pag. 475-489.
(218) 1887. FISCHER E. e TAFEL J. *Oxydation der mehrwertigen Alcohole.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XX, pag. 1088-1094.
(219) 1887. Id. *Synthetische Versuche in der Zuckergruppe.* I e II Mitth. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XX, pag. 2566 e 3384.
(220) 1887. TIERFELDER H. *Untersuchungen über die Glykuronsäure.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, pag. 388-409.
(221) 1887. MYLIUS F. *Ueber die blaue Jodstärke, etc.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, pag. 306-347.
(222) 1888. FISCHER E. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXI, pag. 2631.
(223) 1888. BROWN H. T. e MORRIS G. H. (*Determinazione del peso molecolare degl'idrati di carbonio*). Chem. News, vol. LVII, pag. 196-197. Chem. Centr., Bd. XIX, pag. 891.
(224) 1888. HAGEMANN. *Ueber reducirende Substanzen im Pferdeharn, nebst Beobachtungen über Fehlerquellen bei Bestimmung des Zuckers im Harn.* Pflüger's Arch., Bd. XLIII, pag. 501-514.
(225) 1888. NEUMEISTER R. *Ueber die Einführung der Albumosen und Peptone in den Organismus.* Zeitschr. Biol., N. F., Bd. VI, pag. 272-292 (pag. 279).
(226) 1888. STUTZER A. e JSBERT A. *Untersuchungen über das Verhalten der in Nahrungs- und Futtermitteln enthaltenen Kohlehydrate zu den Verdauungsfermenten.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, pag. 72-94.
(227) 1888. KELLNER O. *Ueber die Vertretungswerthe von Fett und Kohlehydraten in der Nahrung.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XII, pagina 113-115.
(228) 1888. CRAMER A. *Beiträge zur Kenntniss des Glykogens.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXIV, pag. 67-104.
(229) 1888. TAPPEINER H. *Nachträge zu den Untersuch. über die Gährung der Cellulose.* Ibid., pag. 105-119.
(230) 1888. TOLLENS B. *Handbuch der Kohlehydrate.* Breslau.
(231) 1889. HOFMEISTER F. *Ueber Resorption und Assimilation der Nährstoffe.* Ve Mitth. *Ueber die Assimilationsgrenze der Zuckerarten.* Arch. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXV, pag. 240-256.
(232) 1889. THIERFELDER H. *Untersuchungen über die Glykuronsäure.* 2^e Mitth. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, pag. 275-284.
(233) 1889. BUDDE V. *Ueber die densimetrische Bestimmung des Zuckers im Harn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, pag. 326-338.
(234) 1889. JUNGFLEISCH E. e GRIMBERT L. *Sur le sucre interverti.* Compt. rend., tom. CVIII, pag. 144-146.
(235) 1889. FISCHER E. e PASSMORE FR. *Bildung von Aerose aus Formaldehyd.* Ber. deutsch. Chem. Gesell., Bd. XXII, pag. 359-361.
(236) 1889. FISCHER E. *Ueber die Verbindungen des Phenylhydrazins mit den Zuckerarten.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXII, pag. 87-97.
(237) 1889. ALBERTONI P. *Sul contegno e sull'azione degli zuccheri nell'organismo.* Ann. di chim. e di farm. (4.^a), vol. IX, pag. 65.
(238) 1890. AMBRONN H. *Cellulose-Reaktion bei Arthropoden und Mollusken.* Mitth. zool. Stat. Neapel, Bd. IX, pag. 475-478, e Pflüger's Arch., Bd. XLIV, pag. 391.
(239) 1890. KUELZ. *Beitrag zur Kenntniss des Glykogens.* Marburger Festschrift f. C. LUDWIG, pag. 69.

(240) 1890. Prausnitz. *Ueber den zeitl. Ablauf der Anlagerung und des Schwindens des Glykogens.* Zeitschr. Biol., Bd. XXVII, pag. 377.
(241) 1890. Hergenhahn. *Ueber den zeitl. Verlauf der Anhäufung des Glykogens in der Leber und den Muskeln.* Zeitschr. Biol., Bd. XXVII. pag. 215.
(242) 1890. John. *Ueber die Einwirkung fetter Säuren auf die Stärkeumwandlung durch den Speichel.* Dissert. Berlin.
(243) 1890. Seegen. *Die Zuckerbildung im Thierkörper.* Berlin.
(244) 1890. Pohl J. *Ueber die Fällbarkeit colloider Kohlenhydrate durch Salze.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pag. 151 164.
(245) 1890. Schulze E., Steiger E. e Maxwell W. *Zur Chemie der Pflanzenzellenmembranen.* Zeitschr. physiol. Chem.. Bd. XIV, pag. 227-273; e Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXII, pag. 1192-1196.
(246) 1890. Ashdown H. H. *Ueber gewisse im Harn vorkommende Substanzen, welche Kupferoxyd beim Kochen mit Alkalien reduciren.* Brit. med. journ., pag. 169.
(247) 1890. Hirschl J. A. *Ueber den Werth der Phenilhydrazinzuckerprobe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pag. 337-389.
(248) 1890. Schulz O. *Die Synthese des Traubenzuckers.* Biol. Centr., Bd. X, pag. 551-560, 620-640.
(249) 1890. Fischer E. *Synthesen in der Zuckergruppe.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIII, pag. 2114-2141.
(250) 1890. Meunier J. *Transformation du glucose en sorbite.* Compt. rend., vol. CXI, pag. 49-51.
(251) 1890. Vincent C. e Delachanal. *Note sur l'hydrogénation de la sorbine et sur l'oxydation de la sorbite.* Compt. rend., vol. CXI, pag. 51-53.
(252) 1890. Fischer E. *Reduction des Fruchtzuckers.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIII, pag. 3684 3687.
(253) 1890. Id. *Synthese der Mannose und Lävulose.* Ber. deutsch. chem. Ges, Bd. XXIII, pag. 370-394.
(254) 1890. Id. *Synthese des Traubenzuckers.* Ibid., pag. 799-805.
(255) 1890. Id. *Synthese einer neuen Glucobiose.* Ibid., pag. 3687-3691.
(256) 1890. Lange G. *Zur quantitativen Bestimmung der Cellulose.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pag. 283-288.
(257) 1890. Kueny L. *Ueber Benzoësäureester der Kohleydrate, des Glykosamins und einiger Glykoside.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pagina 330-371.
(258) 1891. Fischer E. e Piloty O. *Reduction der Zuckersäure.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIV, pag. 521-528.
(259) 1891. Tierfelder H. *Ueber die Reduction der Glykuronsäure durch Natriumamalgam.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, pag. 71-76.
(260) 1891. Albertoni P. *Manière de se comporter des sucres et leur action dans l'organisme.* Arch. ital. de Biol., vol. XV, pag. 321-343.
(261) 1891. Id. *Sul contegno e sull'azione degli zuccheri nell'organismo.* Ann. di chim. e di farm. (4.ª), vol. XIII, pag. 145.
(262) 1891. Villiers A. *Sur la transformation de la fécule en dextrine par le ferment butyrique.* Compt. rend., tom. CXII, pag. 435.
(263) 1891. Mallevre. *Ueber den Einfluss der als Gährungsproduct der Cellulose gebildeten Essigsäure auf den Gaswechsel.* Pflüger's Arch., Bd. XLIX, pag. 460.
(264) 1891. Sabanejeff. *Kryoskopische Untersuchungen der Kolloïde.* Chem. Centralbl., pag. 10.
(265) 1891. Munck I. e Rosenstein. *Zur Lehre von der Resorption im Darme, etc.* Virchow's Arch., Bd. CXXIII, pag. 230.
(266) 1891. Macfadyen, Nencki e Sieber. *Unters. über die chemisch. Vorgänge im menschl. Dünndarm,* Arch. f. exp. Path. med. Pharm., Bd. XXVIII, pag. 347.
(267) 1891. Gabritschewsky. *Mikrosk. Unters. über Glykogenreaction im Blut.* Arch. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXVIII, pag. 272.
(268) 1891. Schulze E. *Zur Chemie der pflanzlichen Zellmembranen.* II° Abhandl. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, pag. 387-438.

(269) 1892. FRAENKEL S. *Studien über Glykogen.* Pflüger's Arch., Bd. LII, pag. 125.
(270) 1892. KRAWKOW. *Ueber verschiedenartige Chitine.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. XI, pag. 177-198.
(271) 1892. VOIT C. *Ueber die Glykogenbildung nach Aufnahme verschiedener Zuckerarten.* Zeitschr. Biol., Bd. XXVIII, pag. 258.
(272) 1892. FISCHER E. *Ueber Kohlenstoffreichere Zuckerarten aus Glucose.* Annal. Chem. Pharm., Bd. CCLXX, pag. 64-107.
(273) 1892. VOIT C. ecc. *Ueber die Glykogenbildung nach Aufnahme verschiedener Zuckerarten.* Zeitschr. Biol., N. F., Bd. X, pag. 245-293.
(274) 1892. WINTERSTEIN E. *Ueber das pflanzliche Amyloid.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, pag. 353-380.
(275) 1892. Id. *Ue er das Verhalten der Cellulose gegen verdünnte Säuren und verdünnte Alkalien.* Ibid., pag. 391-400.
(276) 1892. Id. *Zur Kenntniss der Muttersubstanzen des Holzgummis.* Ibid., pag. 381-390.
(277) 1893. PFLUEGER E. *Ueber die Analyse des Glykogens.* Pflüger's Arch., Bd. LV, pag. 394.
(278) 1893. LINTNER e DUELL. *Ueber den Abbau der Stärke unter dem Einfluss der Diastaseewirkung.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch, Bd. XXVI, pag. 2547.
(279) 1893. CREMER M. *Ueber das Verhalten einiger Zuckerarten im thierischen Organismus.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. XI. pag. 484-553.
(280) 1893. HUPPERT. *Ueber die specifische Drehung des Glykogens.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, pag. 137-143.
(281) 1893. Id. *Ueber das Vorkommen von Glykogen im Blut und Eiter.* Ibid., pag. 144-166.
(282) 1893. DREYFUSS I. *Ueber das Vorkommen von Cellulose in Bacillen, Schimmel- und anderen Pilzen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, pag. 358-379.
(283) 1893. WINTERSTEIN E. *Zur Kenntniss der Thiercellulose oder des Tunicins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, pag. 43-56.
(284) 1894. Id. *Zur Kenntniss der Trehalose.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, pag. 70-83.
(285) 1894. Id. *Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile.* I^e Mitth. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, pagina 521-562.
(286) 1894. Id. *Zur Kenntniss der Thiercellulose oder des Tunicins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, pag. 43-56.
(287) 1894. Id. *Ueber ein stickstoffhaltiges Spaltungsprodukt der Pilzcellulose.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, pag. 3113.
(288) 1894. KUELZ E. e VOGEL J. *Welche Zuckerarten entstehen bei dem durch tierische Fermente bewirkten Abbau der Stärke und des Glykogens?* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. XIII, pag. 108.
(289) 1894. HUPPERT. *Ueber die specifische Drehung des Glykogens.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XVIII, pag. 137-143.
(290) 1894. HOPPE-SEYLER F. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, p. 3329.
(291) 1994. SALKOWSKI E. *Ueber die Kohlehydrate der Hefe.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, pag. 497, 925, 3325.
(292) 1894. FISCHER E. e THIERFELDER H. *Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefen.* Bericht. deutsch. chem. Gesell., Bd. XXVII, pag. 2031.
(293) 1894. FISCHER E. *Die Chemie der Kohlehydrate und ihre Bedeutung für die Physiologie.* Festrede. Berlin.
(294) 1894. Id. *Ueber den Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme* II. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVII, pag. 3479-3482.
(295) 1894. SCHUNK E. e MARCHLEWSKI L. *Studien über einige natürliche Zuckerarten.* Ann. Chem. Pharm., Bd. CCLXXVIII, pag. 349.
(296) 1894. SCHULZE E. *Zur Kenntniss der pflanzlichen Zellmembranen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, pag. 38-69.

(297) 1894. Cremer M. *Zur Kenntniss des Säureabbaues des Glykogens.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. XIII, pag. 182.
(298) 1894. Fischer E. *Ueber den Einfluss der Konfiguration auf die Wirkung der Enzyme.* II. Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXVII, pagina 3479-3482.
(299) 1894. Cremer M. *Ueber die Umlagerungen der Zuckerarten unter dem Einflusse von Ferment und Zelle.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXXI, pag. 183-190.
(311) 1895. Id. *Zucker und Zelle.* Ibid., Bd., XXXII, pag. 49-57.
(300) 1895. Lintner e Duell. *Ueber den Abbau der Stärke durch die Wirkung der Oxalsäure.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, p. 1530.
(301) 1895. Weiske H. *Ueber die Verdaulichkeit der in den vegetalischen Futtermitteln enthaltenen Pentosane.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd XX, pag. 489-497.
(302) 1895. Araki T. *Ueber die chem. Aenderungen der Lebensprocesse in Folge von Sauerstoffmangel.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, pagina 422-475.
(303) 1895. Fischer E. *Ueber den Einfluss. etc.* III. Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, pag. 431.
(304) 1895. Buelow K. *Ueber die dextrinartigen Abbauprodukte der Stärke.* Pflüger's Arch. Bd. LXII, pag. 153.
(305) 1895. Winterstein E. *Ueber die Spaltungproducte der Pilzcellulose.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVIII, pag. 167-169.
(306) 1895. Id. *Notiz über die Pilzcellulose.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, pag. 342.
(307) 1895. Pavy F. V. *Die Physiologie der Kohlehydrate. Ihre Verwendung als Nahrungsmittel und ihr Verhältniss zum Diabetes.* (Trad. da K. Grube). Leipzig und Wien, Fr. Deutike.
(308) 1895. Starke J. *De la prétendue influence des substances albuminoïdes sur l'amidon et le glycogène.* Arch. de physiol., ann. XXVII, p. 455.
(309) 1895. Gilson E. *Das Chitin und die Membranen der Pilzzellen.* Ber. deutsch. chem. Gesel., Bd. XXVIII, pag. 821.
(310) 1895. Araki T. *Ueber das Chitosan.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, pag. 498.
(312) 1896. Winterstein. *Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXI, pagina 134-155.
(313) 1896. Köbner. *Ueber die Veränderungen des Rohrzuckers in Magendarmkanal.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXXIII, pag. 404-407.
(314) 1896. Scanzoni Fr. *Ueber die Resorption des Trauben-Zuckers im Dünndarn und deren Beeinflussung durch Arzneimittel.* Ib., p. 452-474.
(315) 1896. Pavy F. W. *Sugar-formation in alcohol-coagulated liver.* Proc. of the physiol. soc., 27 June.
(316) 1896. Id. *The quantitative determination of sugar in blood.* Ib., 27 October.
(317) 1897. Joung R. A. *The precipitation of carbohydrates by neutral salts.* Proc. of the physiol. Soc., 13 February.

CAPITOLO QUARTO

Le sostanze organiche.

(Continuazione)

I GRASSI.

1. — *PROPRIETÀ CHIMICHE DEI GRASSI.*

§ 1. **Generalità.** — I grassi trovansi in quantità considerevole regno vegetale e animale, e costituiscono in entrambi i casi dei depositi di energia latente, dove la parte attiva e funzionante dell'organismo attinge, nelle epoche di carestia, il materiale per il suo funzionamento. L'organismo animale, infatti, ha la proprietà di formare i grassi congrui alla sua individualità, non solo dai grassi ingeriti, trasformandoli, ma anche dalle sostanze proteiche e dagl'idrati di carbonio.

Tutto ciò che l'organismo può risparmiare del materiale che gli si mette a disposizione, sotto qualsiasi forma, lo risparmia in forma di glicogene, per i bisogni più urgenti ed immediati, ma in forma principalmente di grassi neutri, per i bisogni remoti.

Il grasso rappresenta, dunque, un materiale morto, e privo d'ogni attività metabolica è il tessuto grassoso, in cui quello è accumulato, quando è pervenuto al suo massimo grado di metamorfosi adiposa. In tali condizioni, l'arricchimento ulteriore dell'organismo in grasso, non può esser dovuto che alla metamorfosi adiposa (fisiologica) di altri elementi cellulari connettivali, sviluppatisi forse, per cariocinesi, da elementi giovani del connettivo, quali sempre si riscontrano nel tessuto adiposo, e che, forse, sarebbero da paragonarsi agli elementi giovani germinativi che trovansi negli strati più profondi delle glandole a rimpiazzare gli elementi adulti logorantisi durante il loro funzionamento.

In questo capitolo, sotto la denominazione generale di **grassi,** studieremo i grassi neutri, gli acidi grassi, i saponi, i pigmenti speciali delle sostanze adipose, e finalmente la lecitina, la colesterina e la mielina.

A. — I GRASSI NEUTRI.

§ 2. Sono essi che costituiscono propriamente il deposito grassoso degli organismi animali, e si trovano particolarmente nel tessuto connettivo intermuscolare e sottocutaneo, nel midollo osseo, nell'omento, intorno ai vari visceri addominali, ecc.

I **grassi neutri** sono propriamente, per la loro costituzione chimica, degli **eteri composti** di un alcool triatomico: la **glicerina** (circa 7 %) con acidi monobasici: gli **acidi grassi** (circa 93 %), i quali si formano con simultanea eliminazione di una molecola d'H^2O. Così, per esempio, anche l'etere etilacetico è formato dalla combinazione di una molecola d'acido acetico con una d'alcool etilico:

$$\underbrace{CH^3 . COOH}_{\text{(acido acetico)}} + \underbrace{C^2H^5 . OH}_{\text{(alcool etilico)}} = \underbrace{CH^3 . COO . C^2H^5}_{\text{(etere etilacetico)}} (+ H^2O).$$

I **grassi neutri** dell'organismo animale sono, quasi esclusivamente, la **trioleina**, la **tripalmitina** e la **tristearina**, ossia i **trigliceridi** degli acidi **oleico, palmitico** e **stearico**; e di questi noi ci occuperemo in modo speciale.

I gliceridi degli altri acidi grassi trovansi raramente a far parte dell'organismo animale: essi si incontrano particolarmente nel grasso del latte, come eteri degli acidi capronico, caprilico, caprinico, miristico, ecc., e saranno menzionati là dove avremo occasione d'incontrarli.

Tuttavia, per dare un'idea generale della formazione di questi gliceridi inferiori, prendiamo, per esempio, il gliceride dell'acido acetico.

Poichè la glicerina contiene tre ossidrili, si potranno avere tre eteri corrispondenti, secondo che uno, due o tre radicali acidi vengono a sostituire l'idrogeno di uno, due o tre ossidrili; e avremo così le tre seguenti **acetine**:

$$\underbrace{C^3H^5 \begin{cases} O . C^2H^3O \\ OH \\ OH \end{cases}}_{\text{(monoacetina)}} , \quad \underbrace{C^3H^5 \begin{cases} O . C^2H^3O \\ O . C^2H^3O \\ OH \end{cases}}_{\text{(diacetina)}}$$

$$\underbrace{C^3H^5 \begin{cases} O . C^2H^3O \\ O . C^2H^3O \\ O . C^3H^3O \end{cases}}_{\text{(triacetina).}}$$

Secondo lo stesso meccanismo si formano tutti gli altri gliceridi.

§ 3. I grassi neutri, assumendo H^2O sotto l'azione di un enzima (pancreatico, **steapsina, liposcistina** di MOLESCHOTT), o di vapor

d'acqua ad alta tensione, o di acidi minerali diluiti e bollenti, si decompongono così:

$$\underset{\text{(grasso neutro)}}{\underline{C^3 H^5 (O R)^3}} + \underset{\text{(acqua)}}{\underline{3 H^2 O}} = \underset{\text{(glicerina)}}{\underline{C^3 H^5 (O H)^3}} + \underset{\text{(ac. grasso)}}{\underline{3 H O R}}.$$

Più facile, però, riesce la scissione d'un grasso neutro, bollendolo con KOH non troppo concentrata, o meglio con soluzione alcoolica di KOH. Così si formano, accanto alla glicerina, dalla combinazione degli acidi grassi liberi con i metalli alcalini, i **saponi** (sali degli acidi grassi).

Una lenta scissione dei grassi neutri avviene anche tenendoli a lungo all'aria o in contatto di acqua, di metalli o di sostanze proteiche; allora diventano giallastri, presentano reazione acida e acquistano un sapore e un odore disgustosi, perchè diventano **rancidi** formandosi acidi liberi e glicerina, e i primi ossidandosi in acidi grassi volatili. La rancidificazione è stata ritenuta finora come indipendente da un'azione microbica, ritenendosi come condizione essenziale solo l'azione dell'aria e della luce (GAFFKY e RITSERT). Ma recentemente è stato dimostrato che la rancidificazione dei grassi neutri è dovuta ad un'azione batterica.

§ 4. I grassi neutri si possono anche formare artificialmente per sintesi, scaldando glicerina e l'acido grasso corrispondente a 300° C.:

$$\underset{\text{(ac. palmitico)}}{\underline{3\, C^{16} H^{32} O^2}} + \underset{\text{(glicerina)}}{\underline{\begin{array}{l} C H^2 O H \\ | \\ C H \;\; O H \\ | \\ C H^2 O H \end{array}}} = \underset{\text{(tripalmitina)}}{\underline{(C^{16} H^{31} O^2)\, 3 \begin{array}{l} C H^2 \\ | \\ C H \\ | \\ C H^2 \end{array}}} + \underset{\text{(acqua)}}{\underline{3 H^2 O}}$$

La **trioleina**:

$$\underset{\text{(glicerina)}}{\underline{\begin{array}{l} C H^2 O H \\ | \\ C H \;\; O H \\ | \\ C H^2 O H \end{array}}} + \underset{\text{(acido oleico)}}{\underline{\begin{array}{l} \overbrace{H O}^{\text{(acqua)}} . \overbrace{O C}^{\text{(oleile)}} . C^{17} H^{33} \\ H O . O C . C^{17} H^{33} \end{array}}} = \underset{\text{(trioleina)}}{\underline{C^3 H^5 (O . C^{18} H^{33})^3}} + 3 H^2 O$$

ha un punto di solidificazione eguale a — 5° C., un punto di fusione eguale a 0° C., un peso specifico pari a 0,914; è facilmente solubile in alcool ed etere freddi, e a sua volta scioglie tutti i grassi solidi, specialmente a 30° C, ed è per ciò il grasso che tiene gli altri in soluzione alla temperatura del corpo. Si trova in maggior quantità nel grasso sottocutaneo. Cristallizza in aghi fini; diventa facilmente rancida all'aria; dall'acido nitroso vien trasformata nell'isomera **elaidina**, che è però solida.

La **tripalmitina**:

$$\begin{array}{l} C\,H^2\,O\,H \\ | \\ C\,H\,O\,H \\ | \\ C\,H^2\,O\,H \\ \hline \text{(glicerina)} \end{array} + \begin{array}{l} \overbrace{H\,O}^{\text{(acqua)}}\,.\,\overbrace{O\,C\,.\,C^{15}\,H^{31}}^{\text{(palmitile)}} \\ H\,O\,.\,O\,C\,.\,C^{15}\,H^{31} \\ H\,O\,.\,O\,C\,.\,C^{15}\,H^{31} \\ \hline \text{(acido palmitico)} \end{array} = \begin{array}{l} C^3\,H^5\,(O\,.\,C^{16}\,H^{31}\,O)^3 + 3\,H^2\,O. \\ \hline \text{(tripalmitina)} \end{array}$$

ha un punto di fusione eguale a circa 62° C., è discretamente solubile in alcool ed etere freddi, forma una parte considerevole del grasso dell'uomo (LANGER). Cristallizza in rosette di aghi fini, e si trova anche fra i grassi vegetali.

(Un miscuglio di palmatina e stearina fu chiamato **margarina** e cristallizza in masse sferiche).

La **tristearina**:

$$\begin{array}{l} C\,H^2\,O\,H \\ | \\ C\,H\,O\,H \\ | \\ C\,H^2\,O\,H \\ \hline \text{(glicerina)} \end{array} + \begin{array}{l} \overbrace{H\,O}^{\text{(acqua)}}\,.\,\overbrace{O\,C\,.\,C^{17}\,H^{35}}^{\text{(stearile)}} \\ H\,O\,.\,O\,C\,.\,C^{17}\,H^{35} \\ H\,O\,.\,O\,C\,.\,C^{17}\,H^{35} \\ \hline \text{(acido stearico)} \end{array} = \begin{array}{l} C^3\,H^5\,(O\,.\,C^{18}\,H^{35}\,O)^3 + 3\,H^2\,O \\ \hline \text{(tristearina)} \end{array}$$

pura, ha un punto di fusione eguale a 71,5 C., impura 63° C.; è quasi insolubile in alcool freddo ed etere, solubile in alcool ed etere caldi. Costituisce la parte principale dei grassi solidi (sego, grasso di cammello, ecc.), e si trova anche nei grassi vegetali. Cristallizza dall'alcool in tavolette rettangolari splendenti, di rado rombiche.

§ 5. Il grasso ha non solamente nei diversi animali, ma anche nelle diverse parti di uno stesso animale, differente consistenza, dipendente dal contenuto maggiore o minore di stearina e di palmitina. che si trovano mescolate con l'oleina. Quest'ultima abbonda negli animali pecilotermi (e se ne comprende la ragione, pensando che ha un punto di solidificazione molto basso) e anche nell'uomo, in cui si trova nella proporzione di circa 67-80 °/₀ rispetto agli altri trigliceridi.

Di conseguenza, il punto di fusione dei grassi misti dipende dalla loro composizione:

Grassi	Punto di fusione	Autore
1. Stearina	60° C.	ARNSCHINK
2. Miscuglio di stearina e olio di mandorle .	55° »	»
3. Sego di cammello . .	52° »	F. MUELLER
4. Sego di cammello . .	49° »	ARNSCHINK
5. Lardo di maiale . .	43° »	F. MUELLER
6. Grasso di maiale . .	34° »	ARNSCHINK
7. Grasso di oca . . .	25° »	»
8. Olio d'olive	liquido	»

§ 6. I grassi neutri e purissimi sono incolori o giallognoli, inodori, insapori; hanno un peso specifico minore dell'acqua, in cui sono insolubili; si sciolgono invece in alcool ed etere caldi, benzolo, cloroformio, ecc., e specialmente in liquidi contenenti sali degli acidi biliari. Hanno la proprietà di emulsionarsi nelle soluzioni di sapone, di gomma, d'albumina, molto più difficilmente in acqua semplice, e di sciogliere una quantità di sostanze coloranti. Non agiscono sulla luce polarizzata. I grassi si sciolgono un poco anche in soluzioni concentrate di zucchero, le quali ne emulsionano una gran quantità.

Bollono a circa 300° C., dissociandosi in parte, e bruciano con fiamma lucente e affumicante.

Reazione dell'acroleina. — Scaldati fortemente, specialmente con un po' di $KHSO^4$ o di P^2O^5 (sostanze disidratanti) sviluppano vapori irritanti di acroleina, che deriva dalla scomposizione della glicerina:

$$\underbrace{C^3H^5(OH)^3}_{\text{(glicerina)}} - 2H^2O = \underbrace{C^3H^4O}_{\text{(acroleina)}},$$

ciò che li differenzia dagli acidi grassi e dalla colesterina.

L'acido osmico tinge in nero o bruno intenso i grassi: una reazione usata a preferenza dagl'istologi, ma che non è caratteristica, essendo comune ad altre sostanze; onde HEIDENHAIN ebbe a dire che, « come non è tutto oro quel che splende, così non è tutto grasso quel che si tinge in nero con acido osmico ».

I grassi lasciano sulla carta o sul vetro smerigliato macchie indelebili. Se si mette una goccia d'olio di fegato di merluzzo rancido (o d'altro olio) sopra una soluzione 0,25 °/₀ di Na^2CO^3, si osservano sulla superficie del liquido delle figure ameboidi (QUINETTE, GAD, QUINCKE, LEHMANN), per il fatto che l'acido grasso libero contenuto nell'olio si combina col carbonato sodico, formando il sapone corrispondente, nella superficie di contatto dei due liquidi. In conseguenza di questa combinazione la tensione superficiale della goccia d'olio viene qua e là a diminuire, onde la goccia manda dei prolungamenti a forma di pseudopodi. Variando l'alcalinità del liquido e il contenuto dell'olio in acido grasso libero, si possono ottenere le più svariate figure, alcune delle quali hanno una strana somiglianza con le forme di pseudopodi di alcuni rizopodi.

B. — Gli acidi grassi.

§ 7. Gli acidi grassi, che possono incontrarsi nella costituzione dei grassi neutri o come prodotti di scomposizione d'altre sostanze negli organismi animali superiori, appartengono a diverse serie. Essi però non fanno parte dell'alimentazione animale in forma di acidi liberi, o solo in piccolissima quantità; più abbondanti invece si trovano in alcuni grassi vegetali, come l'olio d'olivo e di lino.

A far parte dei trigliceridi che entrano nella costituzione del grasso animale, s'incontrano due grassi della **serie acetica** e uno della **serie oleica**, che sono:

Termine della serie	Serie acetica $(C^n H^{2n} O^2)$	Serie oleica $(C^n H^{2n-2} O^2)$
16.	$\left\{\begin{array}{l} CH^3 \\ \vert \\ (CH^2)^{13} \\ \vert \\ CH^2 \\ \vert \\ CO.OH \end{array}\right.$ Acido palmitico	—
18.	$\left\{\begin{array}{l} CH^3 \\ \vert \\ (CH^2)^{15} \\ \vert \\ CH^2 \\ \vert \\ CO.OH \end{array}\right.$ (Acido stearico)	$\begin{array}{l} CH^3 \\ \vert \\ (CH^2)^{15} \\ \vert \\ CO \\ \vert \\ CO.OH \end{array}$ (Acido oleico)

L'**acido oleico** forma alla temperatura ordinaria un liquido oleoso incolore, insapore, inodore, che cristallizza a + 4° C. e si liquefà a + 14° C.

È insolubile in acqua, solubile in alcool, etere, cloroformio, H^2SO^4 concentrato. Scaldato fortemente, dà, a canto ad altri acidi grassi volatili, dell'**acido sebacico** $(C^{10} H^{18} O^4)$ cristallizzante in tavolette splendenti liquefacentisi a 127° C.; trattato con HNO^2 allo stato nascente dà l'isomero **acido elaidinico** solido, che fonde a + 45°-47° C. Ha reazione neutra alle carte di tornasole, benchè sposti l'CO^2 dai carbonati e l'acido acetico dall'acetato di calcio.

Reazione con H^2SO^4 e saccarosio. — Con H^2SO^4 concentrato e un po' di saccarosio l'acido oleico dà, a caldo, un liquido rosso o rosso-violetto.

Se si precipita con acetato di piombo una soluzione di oleato sodico o potassico, si ottiene una massa bianca, tenace di oleato di piombo, che è insolubile in acqua, poco solubile in alcool, ma è solubile in etere, a differenza dei saponi di piombo degli altri due acidi grassi, che ora studieremo.

Bollendo l'acido oleico a 210° C. con H I e P rosso, assume due atomi d'H e si trasforma in acido stearico.

L'acido oleico si trova per un istante libero, ma sopratutto in forma di sapone, nel contenuto intestinale, durante la digestione, nel chilo, nel sangue, nella bile, nelle feci. Lo stesso dicasi dei due acidi grassi seguenti.

L'**acido palmitico** ha caratteri simili a quelli dell'acido stearico. Misto con questo, fu chiamato **acido margarico**. Questo miscuglio, cristallizzato in foglietti allungati, sottili, ritorti intorno all'asse longitudinale, si trova nel pus vecchio, nell'espettorato di malati affetti da gangrena polmonare, ecc.

L'acido palmitico solo cristallizza in fascetti di aghi fini, che hanno un punto di fusione eguale a + 62° C. È bianco, inodore, insipido; è solubile in alcool bollente, etere, cloroformio, acido acetico.

L'**acido stearico**, in forma di sapone di Ca e di NH^3 trovasi negli escrementi e nell'adipocera; come sapone di Na anche nel sangue, nei trasudati, nel pus. Cristallizza (dall'alcool bollente) in scaglie o foglie grandi, splendenti, rombiche allungate. Il suo punto di fusione è + 69,2 C. È il più difficilmente solubile degli acidi grassi. È solubile in etere, cloroformio, acido solforico concentrato, alcool bollente, essenza di trementina, benzolo, solfuro di carbonio, acido acetico caldo, creosoto.

Gli acidi grassi tingono in rosso l'alcool-etere neutro colorato in blu-violetto dalla tintura di alcanna.

§ 8. Vogliamo qui riportare in apposite tabelle un certo numero di acidi grassi ordinati in serie, e alcuni loro rapporti con altri acidi organici. Incontreremo presto tutte queste sostanze, o la maggior parte di esse, parlando dell'esistenza degli acidi grassi nell'organismo, della loro comparsa nel tubo digerente, della scomposizione dei grassi neutri, ecc.; onde sarà utile aver preso già conoscenza di queste sostanze e dei loro mutui rapporti.

In questa prima tabella (del BEAUNIS) si trovano gli acidi grassi della serie acetica, ordinati secondo il numero d'atomi di C da essi contenuto, e i loro rapporti coi radicali alcoolici corrispondenti, non che le loro formule di struttura.

Tabella undicesima.

Termini	Radicali alcoolici		Acidi grassi della serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)		
	Nomi	Formule	Nomi	Formule di struttura	Formule grezze
1.	—	—	Acido formico	H | C O. O H	$C H^2 O^2$
2.	Metile	$C H^3$	» acetico	$C H^3$ | C O. O H	$C^2 H^4 O^2$
3.	Propile	$C H^3$ | $C H^2$	» propionico	$C^2 H^5$ | C O. O H	$C^3 H^6 O^2$
4.	Butile	$C^3 H^7$	» butirrico	$C^3 H^7$ | C O. O H	$C^4 H^8 O^2$
5.	Valerile	$C^4 H^9$	» valerico	$C^4 H^9$ | C O. O H	$C^5 H^{10} O^2$
6.	—	$C^5 H^{11}$	» caproico	$C^5 H^{11}$ | C O. O H	$C^6 H^{12} O^2$
7.	—	$C^6 H^{13}$	» enantilico	$C^6 H^{13}$ | C O. O H	$C^7 H^{14} O^2$
8.	—	$C^7 H^{15}$	» caprilico	$C^7 H^{15}$ | C O. O H	$C^8 H^{16} O^2$
9.	—	$C^8 H^{17}$	» pelargonico	$C^8 H^{17}$ | C O. O H	$C^9 H^{18} O^2$
10.	—	$C^9 H^{19}$	» caprico	$C^9 H^{19}$ | C O. H O	$C^{10} H^{20} O^2$
11.	—	—	—	—	—
12.	—	$C^{11} H^{23}$	» laurostearico	$C^{11} H^{23}$ | C O. O H	$C^{12} H^{24} O^2$
13.	—	—	—	—	—
14.	—	$C^{13} H^{27}$	» miristico	$C^{13} H^{27}$ | C O. O H	$C^{14} H^{28} O^2$
16.	—	$C^{15} H^{31}$	» palmitico	$C^{15} H^{31}$ | Co. O H	$C^{16} H^{32} O^2$
17.	—	$C^{16} H^{33}$	» *margarico*	$C^{16} H^{33}$ | C O. O H	$C^{17} H^{34} O^2$
18.	—	$C^{17} H^{35}$	» stearico	$C^{17} H^{35}$ | Co O H	$C^{18} H^{36} O^2$

In quest'altra tabella, si vede come alcuni importanti acidi organici non differiscono dai primi sei termini della serie acetica che per un atomo di O in più, ciò che chiarisce di molto la loro comparsa nell'organismo. Questi acidi appartengono alla **serie glicolica**:

Tabella dodicesima.

Termini	Acidi della serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)		Acidi corrispondenti della serie glicolica ($C^n H^{2n} O^3$)		
	Nome	Formula	Nome	Formula di struttura	Formula grezza
1.	Acido formico	H | C O. O H	Acido carbonico o ossiformico	O H | C O. O H	($C H^2 O^3$)
2.	» acetico	C H^3 | C O. O H	Acido glicolico o ossiacetico	C H^2 O H | C O. O H	$C^2 H^4 O^3$
3.	» propionico	C H^3 | C H^2 | C O O H	Acido lattico o ossipropionico	C H^2 O H | C H^2 | C O. O H	$C^3 H^6$
4.	» butirrico	C H^3 | (C H^2)^2 | C O. O H	Acido ossibutirrico	C H^2 O H | (C H^2)^2 | C O. O H	$C^4 H^8 O^3$
5.	» valerico	C H^3 | (C H^2)^3 | C O. O H	Acido ossivalerico	C H^2 O H | (C H^2)^3 | C O. O H	$C^5 H^{10} O$
6.	» caproico	C H^3 | (C H^2)^4 | C O. O H	Acido ossicaproico o leucico	C H^2 O H | (C H^2)^4 | C O. O H	$C^6 H^{12}$

Agli acidi 2, 3 e 4 della serie acetica o glicolica, corrispondono tre importanti acidi organici, detti della **serie ossalica** (v. tab. XIII).

E finalmente mettiamo a raffronto alcuni acidi grassi della serie acetica e della serie oleica (ved. tabella XIV).

§ 9. Interessa molto conoscere il peso specifico, il punto di ebollizione e di fusione degli acidi grassi che possono essere incontrati nell'organismo animale o nei suoi secreti ed escreti.

Nella seguente tabella si trovano raccolti tutti questi dati (vedi tabella XV).

Tabella tredicesima.

Termini	Serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)	Serie glicolica ($C^n H^{2n} O^3$)	Serie ossalica ($C^n H^{2n-2} O^4$)
2.	CH^3 | $CO.OH$ (acido acetico)	$CH^2.OH$ | $COOH$ (Acido glicolico)	$COOH$ | $COOH$ (Acido ossalico)
3.	CH^3 | CH^2 | $CO.OH$ (Acido propionico)	$CH^2.OH$ | CH^2 | $CO.OH$ (Acido lattico)	$COOH$ | CH^2 | $COOH$ (Acido malonico)
4.	CH^3 | CH^2 | CH^2 | $CO.OH$ (Acido butirrico)	$CH^2.OH$ | CH^2 | CH^2 | $CO.OH$ (Acido ossibutirrico)	$CO.OH$ | CH^2 | CH^2 | $CO.OH$ (Acido succinico)

Tabella quattordicesima.

Termini	Serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)	Serie oleica ($C^n H^{2n-2} O^2$)
3.	CH^3 | CH^2 | $COOH$ (Ac. propionico)	CH^3 | CO | COH (Ac. acrilico)
4.	CH^3 | CH^2 | CH^2 | $COOH$ (Ac. butirrico)	CH^3 | CH^2 | CO | COH (Ac. crotonico)
5.	CH^3 | $(CH^2)^2$ | CH^2 | $CH.OH$ (Ac. valerico)	CH^2 | $(CH^2)^2$ | CO | COH (Ac. angeli o)
18.	CH^3 | $CH^2)^{15}$ | CH^2 | $CO.OH$ **(Ac. stearico)**	CH^3 | $(CH^2)^{15}$ | CO | COH **(Ac. oleico)**

Tabella quindicesima.

Acidi grassi della serie acetica ($C^n H^{2n} O^2$)	Formula	P. spec.	alla temperatura	Punto di ebollizione	alla pressione in mm.	Punto di fusione
Acido formico . . .	$C H^2 O^2$	1,2415	0° C	100,8°	760	+ 8,6°
» acetico. . . .	$C^2 H^4 O^2$	1,0701	0° »	118,1°	»	+ 16,5°
» propionico . .	$C^3 H^6 O^2$	1,0133	0° »	140,9°	»	— 23° a — 24°
» butirrico . . .	$C^4 H^8 O^2$	0,9781	0° »	162,5°	»	— 2° a — 4,5°
» isobutirrico . .	$C^4 H^8 O^2$	0,9651	0° »	154,0°-154,2°	»	—
» isopropilacetico (valerianico)	$C^5 H^{10} O^2$	0,9467	0° »	173,7°	»	—
» capronico. . .	$C^6 H^{12} O^2$	0,9446	0° »	204,5-205°	»	— 1,5°
» caprilico . . .	$C^8 H^{16} O^2$	0,9270	0° »	236-237°	»	+ 16,5°
» caprinico . . .	$C^{10} H^{20} O^2$	0,9300	37,0° »	268-269°	»	+ 31,3 a + 31,4°
» laurinico . . .	$C^{12} H^{24} O^2$	0,8750	43,6° »	225,0°	100	+ 43,6°
» miristico . . .	$C^{14} H^{28} O^2$	0,8622	63,8° »	250,5°	»	+ 53,8°
» *palmitico* . . .	$C^{16} H^{32} O^2$	0,8527	62,2° »	268,5°	»	+ 62,0°
» *stearico* . . .	$C^{18} H^{36} O^2$	0,8454	69,2° »	291,0°	»	+ 69,2°
» *oleico* . . . . ($C^n H^{2n-2} O^2$)	$C^{18} H^{34} O^2$	—	—	223,0°	70	+ 14°
» arachico . . .	$C^{20} H^{40} O^2$	—	—	—	—	+ 75,0°
» ienico	$C^{25} H^{50} O^2$	—	—	—	—	+ 77° a + 78°
» cerotico . . .	$C^{27} H^{54} O^2$	—	—	—	—	+ 78°

C. — Le lecitine, l'acido fosfoglicerico e la colina.

§ 10. La **lecitina** è una combinazione eterea dell'acido fosfoglicerico con due molecole di acido grasso e una di colina. Vi sono per ciò diverse lecitine, a seconda dell'acido grasso che entra nella loro composizione. Esse sono affini ai grassi per la proprietà che hanno di dare glicerina nella loro saponificazione.

La **distearillecitina**, per esempio, ha la seguente costituzione.

Una molecola di glicerina con una di acido fosforico formano l'**acido fosfoglicerico**:

1) $$\underbrace{\begin{array}{l} CH^2.OH \\ CH.OH \\ | \\ CH^2.OH \end{array}}_{\text{(glicerina)}} + \underbrace{HO.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix}}_{\text{(ac. fosforico)}} = \underbrace{\begin{array}{l} CH^2.OH \\ | \\ CH.OH \\ | \\ CH^2.O.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \end{array}}_{\left(\text{ac. fosfoglicerico } C^3 H^9 P O^6\right)} + H^2 O.$$

L'acido fosfoglicerico, combinandosi con due molecole di acido stearico, forma l'**acido distearilfosfoglicerico**:

$$2)\quad \underbrace{\begin{array}{l} CH^2.O.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH^2OH \end{array}}_{\text{(acido fosfoglicerico)}} + \underbrace{\begin{array}{l} HO.C^{18}H^{35}O \\ HO.C^{18}H^{35}O \end{array}}_{\text{(acido stearico)}} = \underbrace{\begin{array}{l} CH^2O.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \\ | \\ CH.O.C^{18}H^{35}O \\ | \\ CH^2.O.C^{18}H^{35}O \end{array}}_{\left(\text{ac. distearilfosfoglicerico } C^{39}H^{77}PO^8\right)} + 2H^2O$$

L'acido distearilfosfoglicerico, combinandosi con una molecola di **colina**, forma la **distearillecitina**:

$$3)\quad \underbrace{\begin{array}{l} CH^2.O.C^{18}H^{35}O \\ | \\ CH.O.C^{18}H^{35}O \\ | \\ CH^2.O.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \end{array}}_{\text{(ac. distearilfosfoglicerico)}} + \underbrace{\begin{array}{l} HO.N\begin{matrix}/CH^3\\-CH^3\\\backslash CH^3\end{matrix} \\ | \\ CH^2 \\ | \\ HO.CH^2 \end{array}}_{\text{(colina)}} = H^2O +$$

$$+ \underbrace{\begin{array}{l} CH^2.O.C^{18}H^{35}O \\ | \\ CH.O.C^{18}H^{35}O \\ | \\ CH^2.O.PO\begin{matrix}OH\\O\end{matrix}\!\!-\!\!\!-\!\!\!-\!\!CH^2 \end{array}}_{\left(\text{distearillecitina } C^{44}H^{90}NPO^9\right)} \quad \begin{array}{l} | \\ HO-N\begin{matrix}/CH^3\\-CH^3\\\backslash CH^3\end{matrix} \\ | \\ CH^2 \end{array}$$

Da questa composizione si rileva facilmente che la lecitina, bollita con acqua di barite, si scompone, assumendo $4\,H^2O$, nel seguente modo:

$$\underbrace{C^{44}H^{90}NPO^9}_{\text{(lecitina)}} + 4H^2O = \underbrace{\begin{array}{l} HO-N\begin{matrix}/CH^3\\-CH^3\\\backslash CH^3\end{matrix} \\ | \\ CH^2 \\ | \\ CH^2OH \end{array}}_{\text{(colina)}} + \underbrace{\begin{array}{l} CH^2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CO^2.O.PO\begin{matrix}OH\\OH\end{matrix} \end{array}}_{\left(\text{ac. fosfoglicerico (fosfoglicerato di bario)}\right)} + \underbrace{2(C^{18}H^{36}O^2)}_{\left(\text{2 ac. stearico (stearato di bario)}\right)}$$

Nello stesso modo possono formarsi la **dipalmitillecitina** e la **dioleillecitina**; ovvero la **stearilpalmitillecitina** ecc., a seconda che, invece di entrare nella molecola della lecitina due molecole dello stesso acido grasso, entrano due molecole di acidi grassi differenti.

§ 11. La lecitina si trova sola o combinata con molecole proteiche, con l'emoglobina (HOPPE-SEYLER), ecc., in quasi tutti gli elementi cellulari animali e vegetali, e sciolta nei liquidi dell'organismo. Specialmente in quantità considerevole si trova nel cervello, nei nervi, nelle uova dei pesci e degli uccelli, negli organi elettrici, nello sperma, nel pus, nei muscoli, nelle emazie, nel latte, nella bile, ecc.

È insolubile in acqua e in soluzioni saline, dove solamente si rigonfia, dando luogo alle così dette **forme mieliniche**, riconoscibili al microscopio, o forma una specie di emulsione.

È solubile in alcool caldo; dalle soluzioni alcooliche concentrate, dopo lungo raffreddamento a 0^0 C, precipita in forma di granuli o di masse di piccoli cristalli a foglietto incolori, che, allo stato di secchezza, hanno un aspetto cereo e sono igroscopici. Questi cristalli sono solubili in alcool, specialmente a 40^0-50^0 C. e anche, benchè meno facilmente, in etere, non che in cloroformio, solfuro di carbonio, benzolo, olii grassi, acido acetico bollente, ecc.

Bruciata, la lecitina lascia un residuo d'acido metafosforico.

Le sue combinazioni più degne di nota sono quelle del suo cloridrato ($C^{44} H^{90} N P O^9 H Cl$) col $Pt Cl^4$ e col $Cd Cl^4$. Essa agisce come una base debole, perchè la sua molecola fissa quasi una molecola di $C O^2$ (cm.^{3} 2,77 di $C O^2$ per grammi 0,092 di lecitina), e come un acido perchè forma combinazioni cristalline con la $K O H$.

Riscaldata sopra i 70^0 C. o lasciata all'aria umida per lungo tempo, diventa bruna e presenta reazione acida.

L'$H^2 S O^4$ diluito la scompone assai lentamente, gli alcali pure, a caldo, saponificandone gli acidi grassi. Per putrefazione, si formano dalla lecitina colina e acido fosfoglicerico; la colina, in seguito, si scompone anch'essa in trimetilamina e altre ptomaine.

La sintesi della lecitina non è ancora stata fatta. Per la combinazione dell'acido distearilfosfoglicerico (preparato da HUNDESHAGEN) con la colina, nasce una distearillecitina, che non ha tutti i caratteri di quella naturale.

La reazione principale della lecitina è dovuta al P che contiene, e si fa dopo la calcinazione dei residui degli estratti alcoolico-eterei con $Na NO^3$ e $Na^2 C O^3$ (ved. in seguito).

§ 12. L'**acido fosfo-glicerico** si può trovare dovunque si trovi lecitina, come prodotto di scomposizione di questa. È un acido bibasico, che si può formare direttamente per sintesi, facendo agire l'anidride fosforica ($P^2 O^5$) sulla glicerina; ha consistenza siropposa; scaldato, si scompone in glicerina e $P^2 O^5$.

I suoi sali di Ba e di Ca sono insolubili in alcool assoluto, facilmente solubili in acqua fredda. I suoi sali di Ca e di Zn cristallizzano bene in foglietti splendenti madreperlacei; questi ultimi sono

simili a quelli di lattato di zinco. La loro soluzione è precipitata dall'acetato di piombo.

La **colina** ($C^5 H^{15} N O^2$) è un altro prodotto di scomposizione della lecitina, ma ebbe questo nome perchè fu trovata per la prima volta da STRECKER fra i prodotti di scomposizione della bile. Si trova dovunque esista lecitina, e recentemente è stata riscontrata anche in estratti di capsule surrenali (MARINO-ZUCO). Vedremo come possa ottenersi pura dal suo cloroplatinato: $C^5 H^{14} N O Cl)^2 Pt Cl^4$, solubile in acqua, o dalla sua combinazione col cloruro d'oro. La prima combinazione di colore giallastro è trimorfa: si presenta cioè o come tavolette esagonali, o in forma di tavolette monocline o di prismi, o in forma di ottaedri regolari.

La soluzione acquosa del cloroplatinato, trattata con $H^2 S$, lascia depositare il solfuro di platino, mentre rimane sciolto il cloruro di colina, che si può poi separare e disseccare.

La base libera, che è un liquido incolore, di consistenza oleosa e di reazione fortemente alcalina, solubile in alcool ed etere, dà con l'acido fosfovolframico in soluzione nitrica un precipitato bianco, che diventa cristallino bollendo; con l'acido fosfomolibdenico un precipitato voluminoso; con joduro di mercurio e potassio, un precipitato giallo cristallino; con joduro di potassio e bismuto, un precipitato rosso amorfo; con cloruro di mercurio, un precipitato bianco granuloso; con acido jodidrico o con joduro potassico, un precipitato granuloso bruno.

Abbiamo visto che la colina è un idrato di trimetilossietilammonio, ed ha la seguente costituzione:

$$\begin{array}{l} \qquad\quad\ \ /C H^3 \\ H O - N - C H^3 \\ \qquad\quad\ \ \backslash C H^3 \\ \qquad\quad\ \ | \\ \qquad\quad\ \ C H^2 . C H^2 O H . \end{array}$$

La colina, che è un corpo molto instabile, scomponendosi a forte calore, dà glicol, ossido di etilene, acqua e trimetilamina, sostanze mediante le quali WURTZ potè ottenerla per sintesi.

Per la determinazione quantitativa della colina è bene sapere che il suo cloroplatinato calcinato dà 31,87 % di platino.

La colina, per sè stessa, non è tossica; ma accanto ad essa, nella scomposizione della lecitina con la barite, può formarsi un'altra base, la **neurina**, che è invece molto velenosa, e che si trova comunemente fra i prodotti alcaloidici di decomposizione putrefattiva dei tessuti animali, detti ptomaine (BRIEGER). Essa si forma, del resto, anche per azione di alcuni batteri sulla colina o la lecitina, in presenza di O. La neurina contiene 2 atomi di H e uno di O in meno della colina:

$$HO-N\begin{cases}CH^3\\CH^3\\CH^3\end{cases}$$
$$|$$
$$CH:CH^2,$$

è, per ciò, un ossidrato di trimetilvinilammonio. È anch'essa un liquido siropposo molto solubile in acqua, ed ha reazione fortemente alcalina. Si scompone a forte calore, dando trimetilamina. Presenta reazioni e combinazioni simili a quelle della colina.

Un prodotto di ossidazione della colina, molto tossico, è una base che si forma per l'azione dell'acido nitrico fumante sulla colina, che ha la stessa formula della **muscarina** cui è isomera:

$$HO-N\begin{cases}CH^3\\CH^3\\CH^3\end{cases}$$
$$|$$
$$CH^2.CHO,$$

e che sarebbe l'aldeide della **betaina** innocua (o trimetilglicocolla).

D. — I SAPONI E LA GLICERINA.

§ 13. I **saponi** sono combinazioni degli acidi grassi con le basi, sono dei veri sali metallici degli acidi grassí.

Si formano o trattando gli acidi grassi puri con carbonati, o trattando i grassi neutri con gli alcali caustici a caldo, specialmente disciolti in alcool. In questo ultimo caso, accanto al sapone, si forma glicerina, per es.:

$$\underbrace{C^3H^5(C^{17}H^{35}CO.O)}_{\text{(tristearina)}}+3KOH=\underbrace{3(C^{17}H^{35}.COOK)}_{\text{(stearato potassico)}}+\underbrace{C^3H^5(OH)^3}_{\text{(glicerina)}}.$$

I saponi (alcalini) formano con l'acqua soluzioni spumose. I saponi di Na e di K sono solubili in acqua, in alcool, quasi punto in etere. Quelli di Ca, Ba, Mg, Pb sono insolubili. Solamente l'oleato di piombo è solubile in etere.

I saponi sono precipitati dalle loro soluzioni acquose, che presentano i caratteri dei liquidi colloidi, dal $NaCl$ e dal $(NH^4)^2SO^4$ aggiunti in sostanza fino a saturazione.

I saponi sono scomposti dagli acidi minerali, che legano il metallo, mentre gli acidi grassi si separano in masse cristalline, essendo insolubili in acqua.

La **glicerina** si forma nel tubo intestinale in tracce durante la saponificazione dei grassi neutri e la fermentazione alcoolica del glicosio.

È un liquido siropposo, incolore quando è puro, inodore, dolciastro, molto igroscopico, solubile in acqua e in alcool in ogni proporzione, insolubile in etere, di reazione neutra. Esposta a temperature molto basse diventa quasi solida.

La glicerina è un alcool triatomico, e può formare, come abbiamo visto, eteri composti con acidi monobasici (**gliceridi**), e combinarsi con metalli ed altri alcooli.

Bolle a 210° C. alla pressione di 50 mm., e a 290° C alla pressione ordinaria; può essere distillata, senza decomporsi, in assenza di aria. Scioglie l'ossido di rame, l'ossido di piombo e altri ossidi metallici, e un po' anche gli acidi grassi. Se si riscalda a lungo a 200° C della glicerina con acidi organici secchi monobasici, questi vi si combinano in parte, con eliminazione di H^2O: in questo modo possono ottenersi artificialmente anche i grassi neutri naturali. Mescolando ed agitando insieme glicerina con cloruro di benzoile e liscivia sodica, si formano eteri benzoici della glicerina, insolubili in acqua.

Il lievito di birra, a 20°-30° C. scompone la glicerina in soluzione acquosa, con formazione di acido propionico. La glicerina non agisce sulla luce polarizzata.

Scaldando la glicerina con P^2O^5 o $KHSO^4$, si decompone in acqua e acroleina o acrol (C^3H^4O): questa, che è l'aldeide dell'alcool allilico ed è intermedia fra questo e l'acido acrilico, analogo all'acido oleico, è una sostanza volatile, irritante, che all'aria subito si ossida, e che riduce rapidamente una soluzione ammoniacale di $AgNO^3$.

Scaldata fortemente con alcali caustici, produce dapprima H e acido lattico, come nella putrefazione; e dall'acido lattico si formano poi acido butirrico, acetico, formico, ecc.

E. — Le colesterine.

§ 14. Della **colesterina** crediamo utile trattar qui, benchè non appartenga alle sostanze grasse, perchè le accompagna sempre, e nelle determinazioni quantitative di esse devesi sempre tener conto della sua presenza.

La **colesterina** ($C^{26}H^{43}OH$, H^2O, secondo Obermueller ed altri, più probabilmente $C^{27}H^{45}OH$) si trova nel tessuto nervoso (più abbondante è nella mielina), nei globuli rossi del sangue, nella bile, nello sperma, nel latte, nel rosso d'uovo, nelle feci, ecc., e in alcuni liquidi patologici.

La colesterina è un alcool monovalente, anzi l'unico alcool che si trovi allo stato libero nell'organismo animale, il cui radicale ($C^{26}H^{43}$), unendosi con Cl, dà un cloruro di colesterina ($C^{26}H^{43}Cl$), e unendosi col gruppo NH^2 dà un composto amidato avente la formula $C^{26}H^{43}NH^2$

Trattata con HNO^3 caldo dà **acido colesterinico**, e, ossidata con acido cromico, dà **acido ossicolico** ($C^{24}H^{16}O^6$). Ossidata con permanganato potassico, dà tre acidi: l'**acido β-colesterinico** ($C^{26}H^{42}O^4$), l'**acido ossicolesterinico** ($C^{26}H^{42}O^5$) e l'**acido diossicolesterinico** ($C^{26}H^{42}O^6$).

La colesterina, una sostanza cristallina bianca splendente, saponacea al tatto, è facilmente solubile in etere caldo o freddo, in glicerina, petrolio, benzolo, in soluzioni di sali biliari, in alcool caldo, in cloroformio.

Dall'etere o cloroformio anidri si separa in fini aghi non contenenti H^2O di cristallizzazione. Dall'alcool o etere contenenti acqua cristallizza in tavole rombiche d'uno splendore madreperlaceo, che si possono facilmente riconoscere al microscopio, e sono caratteristiche.

La colesterina secca fonde a 145° C, e distilla nel vuoto a 360° C. Ha un potere specifico di rotazione (α) $D = -31,6°$, un peso specifico eguale a 1,046.

§ 15. Le sue **reazioni caratteristiche** sono:

a) Trattati con I e H^2SO^4, i cristalli di colesterina presentano una variazione di colori dal bleu, al rosso, al verde e al violetto.

b) Scaldati con un miscuglio di cinque parti di H^2SO^4 con una parte d'H^2O, i cantoni dei cristalli si colorano in rosso.

Queste prove possono esser fatte sotto il microscopio.

c) La colesterina sciolta in cloroformio, mescolata e agitata con un egual volume di H^2SO^4, si colora dapprima in rosso-sangue e poi in porpora, con cessione di H^2O e formazione di carboidrati, detti **colesteriline**, che sarebbero, secondo WEYL, in stretta relazione col gruppo del **terpene**. L'acido, che si raccoglie al fondo, apparisce verde e fluorescente; diluito con acido acetico glaciale, si tinge dapprima in rosa e poi in rosso-porpora serbando la fluorescenza verde. Versata la soluzione cloroformica di colesterina, colorata nel modo dianzi detto, in una capsula, si colora subito in bleu, verde e finalmente in giallo.

Reazione di Liebermann-Burchard. — *d*) Se si aggiunge a una soluzione cloroformica di colesterina dell'anidride acetica e dell'H^2SO^4 gocce, si osserva il liquido colorarsi in rosso-rosa, poi in violetto, in bleu, che passa rapidamente in verde cupo. Dev'essere esclusa la presenza di H^2O. Questa è una reazione sensibilissima; per minime quantità di colesterina, la reazione si verifica dopo alcuni minuti.

Reazione di Obermüller. — *e*) Una piccola quantità di colesterina pura e secca è mescolata con 2-3 gocce di anidride propionica, e posa sopra una piccola fiamma. Raffreddandosi, diventa prima violetta, poi successivamente bleu, verde, grigia, aranciata, rosso-carminio, rosso rame. La comparsa di questi colori è molto evidente, se un po' di sostanza trattata in questo modo si fonde alla fiamma sopra un bastoncino di vetro e poi si osserva, durante il raffreddamento, contro uno schermo oscuro.

f) Se si evapora sopra una piastra di porcellana, sulla fiamma, una piccola quantità di colesterina bagnata con una goccia d'HNO^3 concentrato, si ottiene una macchia gialla, la quale, aggiungendo subito un po' di NH^3, diventa rossa. Questa prova riesce bene, se si scalda cautamente.

g) Se si evapora sopra una piastra di porcellana, sulla fiamma, un po' di colesterina bagnata con HCl contenente del cloruro di ferro, si vede comparire prima un color rosso, poi violetto, che s'avvicina sempre più al bleu, sulle particelle di colesterina rimaste indisciolte. È necessario che la colesterina sia pura.

§ 16. Un'**isocolesterina** fu isolata da SCHULTZE dal grasso della lana di pecora. Essa ha un punto di fusione = 138°-138°,5 C., un potere rotatorio (α) D = + 59°,1; non dà con cloroformio e H^2SO^4 le reazioni colorate della colesterina.

Col nome di **paracolesterina** (punto di fusione: 134°-134°,5 C., (α) D = — 27°,24), di **fitosterina** (punto di fusione: 132°-133° C, (α) D = — 34°,2) e di **caulosterina** (punto di fusione: 158°-159° C, (α) D = — 36°,4) furono descritte tre **colesterine vegetali**, le quali, come le animali, differiscono fra loro per il punto di fusione, per il potere di rotazione, ecc., pur essendo fra loro isomere.

Con gli acidi grassi (stearico e oleico) le colesterine e le isocolesterine formano, come la glicerina, degli eteri composti che corrispondono ai grassi neutri naturali, ma che non sono saponificabili con gli alcali bollenti. Essi si trovano nelle produzioni grasse della pelle di alcuni animali, come nella lanolina, e sono resistentissimi alle azioni batteriche.

BONDZYNSKI e HUMNICKI hanno recentemente trovato nelle feci umane una sostanza, contenente due atomi di H in più della colesterina, e che hanno per ciò chiamato **coprosterina** o **diidrocolesterina** ($C^{27}H^{46}O$). È una sostanza insolubile in acqua ed alcali, solubile in alcool assoluto anche freddo, in etere, cloroformio, solfuro di carbonio, benzolo, etere, petrolio. Cristallizza (dall'alcool o da altri solventi) in aghi lunghi e sottili; fonde, quando è pura, a 95-96° C.; ha un potere specifico di rotazione (α) D = + 24°. La coprosterina dà le reazioni della colesterina, ma con qualche modificazione: per esempio: con acido solforico concentrato dà più tardi il colore rosso oscuro; con anidride acetica e H^2SO^4 non dà la scala dei colori che dà la colesterina, ma prima un colore bleu che tosto passa in verde. Del resto i suoi cristalli, la solubilità in alcool freddo, il suo punto di fusione, il suo potere di rotazione sulla luce polarizzata, e la sua composizione la differenziano benissimo dalla colesterina.

Un'altra differenza consiste in ciò, che non lega il Br e il I, come fa la colesterina. Forma vari eteri composti (**acetil-, propionil-, benzoil-, cinnamilcoprosterina**).

Nelle feci di cavallo esiste inoltre una **ippocoprosterina** ($C^{27} H^{54-56} O$), che sarebbe un prodotto di più alta riduzione della colesterina. Essa è più difficilmente solubile in alcool; cristallizza in aghi brevi riuniti in gruppi di piccole stellette; fonde a 74°-75° C; dà le reazioni della coprosterina.

In vitro non si riesce a ridurre la colesterina in coprosterina, e tanto meno in ippocoprosterina.

F. — Sostanze mieliniche.

§ 17. Diconsi « **sostanze mieliniche** » quei costituenti del tessuto nervoso che si trovano propriamente nell'interno di quella materia detta dagli istologi **mielina** e che forma le **guaine mieliniche** delle fibre nervose. Esse sono la lecitina, la colesterina e il protagono. Delle prime due abbiamo già parlato; ci rimane ora a parlare del protagono e di alcuni suoi prodotti di scomposizione; e ne parliamo qui sia perchè questi corpi hanno fisicamente molta analogia coi grassi, sia perchè veri grassi risultano dalla loro scomposizione. Tanto il protagono, quanto i suoi prodotti di scomposizione (**cerebrosidi**, Thudicum) sembrano essere molto più diffusi nell'organismo di quello che prima si credeva. Infatti queste sostanze, insieme o distinte, sono state trovate, oltre che nel sistema nervoso, dove propriamente abbondano, anche nella milza, nello stroma dei globuli rossi, nei leucociti, nei filamenti spermatici. Inoltre la jecorina trovata da Drechsel e da Baldi nel fegato e in altri organi, anche nel cervello, sembra essere un corpo molto affine ai protagoni.

Ciò che caratterizza la **mielina** (nome che ha più un significato istologico che chimico) è non solamente la sua reazione a contatto dell'acido osmico, che la tinge in bruno-nero, ma anche il disporsi in forma delle così dette « gocce mieliniche » a contatto dell'acqua, sia che questa agisca sulla mielina ancora contenuta nelle sue guaine, sia che vi agisca quando ne è fuori.

Queste « gocce mieliniche », caratterizzate da un netto doppio contorno, non sono però esclusive della mielina, poichè molte altre sostanze, come il protagono impuro, la lecitina, la colesterina impura, le presentano egualmente. È probabile che la comparsa di queste « **forme mieliniche** » sia dovuta al disgregarsi della guaina mielinica a contatto dell'acqua.

§ 18. Il **protagono** (più proprio sarebbe dire i **protagoni**)

$C^{160} H^{308} N^{5} PO^{35}$ secondo Sheridan Lea,

$C^{116} H^{241} N^{1} PO^{22}$ secondo Liebreich,

puro e secco, si presenta come una sostanza cristallina, azotata e fosforata. Dall'alcool caldo si separa, col graduale raffreddamento, in

forma di piccolissimi aghi microscopici, talora riuniti in gruppi, i quali hanno spesso l'aspetto di zolle dai contorni netti, striate in direzione radiale, con margini bitorzoluti o dentati. Il protagono tritato e seccato sull'acido solforico forma una massa pulverulenta bianca, non igroscopica. Il protagono è poco solubile in alcool freddo. più solubile in alcool caldo e in etere. È insolubile in acqua, ma vi si rigonfia, formando prima una massa gelatinosa e poi una soluzione opalescente. Fonde a 200° C., dopo essersi imbrunito a 180° C., convertendosi in un liquido bruno siroppo o, che a 220° si volatilizza. Fuso con salnitro e soda dà fosfato alcalino.

Il protagono fu ottenuto per la prima volta da LIEBREICH dal cervello, e fu da lui considerato come il principale suo costituente. Le ricerche di HOPPE-SEYLER e DIAKONOW fecero credere che esso fosse semplicemente un miscuglio di lecitina e di cerebrina. Ma GAMGEE e BLANKENHORN confermarono i resultati di LIEBREICH. e più recentemente anche BAUMSTARK e KOSSEL hanno contribuito a stabilire che il protagono, se non è propriamente una sostanza unica e definita, è però un corpo distinto molto complesso nella sua costituzione, che si può presentare sotto forme un poco variabili per costituzione chimica e caratteri esteriori. Certo è che noi non possiamo parlare di un solo protagono, ma di protagoni distinti, a seconda dell'organo donde si ottengono; ciò che spiega le divergenze delle analisi elementari.

KOSSEL e FREYTAG dànno come caratteri fondamentali dei protagoni le seguenti loro proprietà:

1.° Queste sostanze contengono C, H, N, O, P e in parte anche S.

2.° Ossidate con HNO^3 dànno acidi grassi superiori.

3.° Trattate con acido solforico o cloridrico bollente dànno come prodotto di scomposizione idrati di carbonio riducenti la soluzione alcalina di $CuSO^4$.

4.° Da tutti i protagoni, trattati con alcali, nascono i cerebrosidi, che a loro volta nella loro scomposizione dànno ammoniaca. galattosio, e un terzo complesso atomico che, ossidato con acido nitrico o fuso con KOH, fornisce acidi grassi superiori.

Onde, provvisoriamente, possiamo chiamare protagoni tutti **quei corpi azotati e fosforati che possono essere scissi, con formazione di cerebrosidi** (KOSSEL e FREYTAG).

L'unica difficoltà che impedisce di noverare la jecorina fra i protagoni è il non avere ancora ottenuto dalla sua scomposizione un cerebroside.

Essendo molto difficile ottenerlo puro, si comprende come ciascuno di questi osservatori abbia avuto risultati analitici differenti. Infatti la composizione centesimale del protagono sarebbe:

	C	H	N	P	O	S	
Sec. LIEBREICH	66,74	11,74	2,80	1,23	17,40	—	
» GAMGEE e BLANKENHORN	66,39	10,69	2,39	1,068	19,46	—	
» BAUMSTARK	66,48	11,12	2,35	1,02	—	—	
» FREMY	66,7	10,6	2,3	0,9	19,5	—	(acido cerebrico)
» KOSSEL e FREYTAG	66,25	11,13	3,25	0,97	17,85	0,51.	

Senonchè, lo S trovato da KOSSEL e FREYTAG sarebbe dovuto, secondo RUPPEL, ad impurità.

Il protagono in soluzione alcoolica, scaldato sopra 48° C., o bollito a lungo con etere, si scompone. Più ordinariamente lo si scompone bollendolo con acqua di barite. Per questa scomposizione, appariscono i prodotti di scissione della lecitina (acidi grassi, acido fosfoglicerico, colina) e cerebrina. Anche i sali dei metalli pesanti (acetato di piombo) sono in grado di distaccare la cerebrina dal protagono, il quale, ossidato con acido nitrico, dà acidi grassi a catene di C molto lunghe.

Ora questa sostanza che si separa dal protagono e che fu detta semplicemente **cerebrina** risulta (PARCUS) di tre corpi distinti, per quanto molto affini fra loro e forse omologhi, che si possono separare per mezzo della cristallizzazione frazionata dalle soluzioni alcooliche calde di cerebrina, o dalla soluzione in acetone, raffreddandole molto lentamente.

I tre corpi accennati, contenenti azoto e privi di fosforo, detti da THUDICUM **cerebrosidi**, quasi per ricordare la loro costituzione che presenta qualche analogia coi glicosidi, sono la **cerebrina** (**frenosina**), l'**omocerebrina** (**cerasina**) e l'**encefalina**.

Secondo la definizione di KOSSEL e FREYTAG, per cerebrosidi vanno considerati **quei corpi azotati privi di fosforo, che sotto l'azione di acidi diluiti si scindono con formazione d'un idrato di carbonio (galattosio) riducente, e che inoltre, ossidati con acido nitrico o fusi con KOH dànno acidi grassi superiori (palmitico, stearico).**

§ 19. La **cerebrina** (**frenosina**) ($C^{70} H^{140} N^2 O^{13}$, KOSSEL), allo stato puro, è una polvere leggera, cristallina, incolore, inodore, igroscopica, che si separa dalle soluzioni alcooliche in forma di globuliti incolori, che si rigonfia un poco nell'acqua, specialmente calda.

La composizione centesimale di questo cerebroside sarebbe:

		C	H	N	O	
Secondo MUELLER	(1858)	68,45	11,20	4,60	15,75	
» GEOGHEGAN	(1879)	68,74	10,91	1,44	18,91	
» PARCUS	(1881)	69,08	11,47	2,13	17,32	
» THUDICUM	(1886)	69,00	11,08	1,96	17,96	(frenosina)
» KOSSEL e FREYTAG	(1891)	68,99	11,52	2,25	17,24.	

Scaldata a 80° C., diventa bruna, a 160° C. fonde, bolle e poi brucia, con fiamma lucente, dando un odore di grasso bruciato.

Triturata in acido solforico, dà lentamente un bel colore rosso, dopo aver tinto il liquido in giallo chiaro.

È insolubile in alcool freddo o etere, solubilissima in alcool caldo, acetone, cloroformio.

L'**omocerebrina (cerasina)** ($C^{70} H^{138} N^2 O^{12}$, KOSSEL) si trova nel miscuglio delle cerebrine in minor quantità; si scioglie, come l'altra, in alcool (più della cerebrina), acetone, cloroformio, e inoltre in etere caldo.

Si separa dalle soluzioni, fatte evaporare lentamente, in formazioni aciculari fini, che spesso confluiscono, prendendo l'aspetto d'una gelatina.

Secca, costituisce una massa cerea, tenace, che si rigonfia in acqua calda, ma non è igroscopica. Dà il colore rosso della cerebrina, quando è trattata con acido solforico. Fonde a 150° C., dopo che a 130° C. ha assunto un colore giallo brunastro.

La composizione centesimale di questo cerebroside puro sarebbe:

		C	H	N	O	
Sec. PARCUS	(1881)	70,06	11,595	2,23	16,11	(omocerebrina)
» THUDICUM	(1886)	69,54	11,69	1,92	16,85	(cerasina dal cervello di bue)
» KOSSEL e FREYTAG	(1891)	70,00	11,69	2,24	16,14	(cerasina dal protagono)

L'**encefalina**, che ha la seguente composizione centesimale:

C 68,40; H 11,60; N 3,09 %,

si trova in piccolissima quantità, e probabilmente nasce dalle due sostanze precedenti, durante la loro preparazione. Per cristallizzazione frazionata si può ottenerla dalle soluzioni in acetone in cui si trovi insieme con l'omocerebrina. Si separa in foglietti leggermente curvi, che possono anche confluire in una massa gelatinosa.

In acqua calda si rigonfia, formando, a differenza delle due sostanze precedenti, una specie di salda, che rimane tale anche dopo il raffreddamento.

A 125° C. comincia a scomporsi, e fonde a 150° C.

Altri cerebrosidi, isolati da KOSSEL e FREYTAG dal pus di essudati pleuritici, e aventi caratteri simili a quelli delle tre sostanze or ora descritte, sarebbero la **piosina** e la **piogenina**.

La prima avrebbe la seguente composizione centesimale media:

C 64,34; H 10,43; N 2,64; O 22,59,

cui corrisponderebbe la formola

$C^{57} H^{110} N^2 O^{15}$ o l'altra $C^{58} H^{110} N^2 O^{15}$.

La composizione centesimale media della piogenina sarebbe:

C 62,62; H 10,45; N 2,47; O 25,46

cui corrisponderebbe la formola $C^{65} H^{128} N^2 O^{19}$.

§ 20. Tutti questi cerebrosidi, scaldati per molte ore a 120° C. con acido solforico diluito, si decompongono, dando uno zucchero, che recentemente è stato trovato essere identico col **galattosio** (THIERFELDER).

Sciogliendo le cerebrine in acido solforico e buttando la soluzione in acqua bollente, esse si decompongono in NH^3, in una sostanza riducente (galattosio), e in un corpo privo di N che si rigonfia nell'acqua, è solubile in etere e fonde a 62°-63° C., detto **cetilide** ($C^{22} H^{42} O^5$) da GEOGHEGAN. Questo corpo, fuso con un alcali caustico nel bagno d'olio a 300° C., dà acido palmitico, oltre a CH^4 e H.

Ossidando con acido nitrico a caldo, o trattando con $H^2 SO^4$ 2 % a 130° C. la cerebrina e la cerasina, si ottiene dalla loro scomposizione acido stearico (THUDICUM), e propriamente **dalla cerebrina si formano tre molecole di acido stearico per ogni due atomi di azoto**.

G. — I LIPOCROMI.

§ 21. I **lipocromi**, o pigmenti del tessuto grassoso e delle sostanze grasse in generale, formano un gruppo di sostanze prive di N, gialle o rosse, che comprende anche il pigmento del siero del sangue di diversi animali (KRUKENBERG), dei *Corpora lutea* (**luteina**, THUDICUM), delle sferine grasse colorate della retina, del tuorlo d'uovo, e finalmente, forse, anche la **tetroneritrina**, ossia quel pigmento rosso che si trova sulla pelle, attorno agli occhi di molti uccelli, e anche nel sangue e nell'ipoderma del gambero e di altri crostacei.

I lipocromi gialli presentano due linee d'assorbimento nello spettro, in F e tra F e G, mentre i rossi presentano una linea in F. I lipocromi alla luce e all'aria si alterano facilmente, impallidendo.

Meglio conosciuta fra i lipocromi è la **carrotina**, il pigmento delle carote, ecc., che resulta come gli altri di C, H e O, ed ha la seguente formola: $C^{18} H^{24} O$ (HUSEMANN), e la **xantofilla** che si trova nelle foglie, nei fiori e nei frutti di alcune piante. Del resto, non si conosce quasi nulla della costituzione dei lipocromi.

I lipocromi sono solubili, come i grassi, in etere, alcool, benzolo, cloroformio, trementina, ecc.; dànno con lo I o con l'$H^2 SO^4$ o con entrambe queste sostanze insieme un color verde o bleu, con acido nitrico un color verde.

I lipocromi resistono all'azione degli alcali.

(Per il resto, ved. il capitolo: PIGMENTI).

§ 22. **Separazione e determinazione quantitativa dei grassi e delle altre sostanze che coi grassi si trovano unite.**

1.° **Separazione dei grassi neutri, acidi grassi, ecc.** — Dai liquidi in cui sono disciolti i grassi possono essere separati, sbattendo quelli ripetutamente con etere; dalle emulsioni (latte), nello stesso modo, ma dopo averle trattate con un po' di soluzione di $NaOH$. In generale, è bene prima disseccare a bagnomaria liquidi o organi finamente tritati, donde si vuole estrarre i grassi, polverizzare il residuo secco, ed estrarlo con etere nell'estrattore di SOXHLET. Il residuo dell'estrazione eterea è bollito con alcool; quest'estratto alcoolico è filtrato a caldo, evaporato a bagnomaria, e il residuo è ripreso con etere.

Ma, secondo PFLUEGER, perchè tutto il grasso passi nell'etere, servendosi anche dell'estrattore di SOXHLET, basterebbero appena 2-5 settimane, calcolando un'estrazione di 10 ore al giorno, perchè l'etere in presenza delle sostanze organiche secche si comporta come l'acqua in presenza dell'olio. PFLUEGER consiglia perciò di mettere la polvere organica secca in un palloncino pieno di etere, e lasciarla ivi ben chiusa per 14 giorni, agitandola un paio di volte al giorno. L'estratto così ottenuto contiene quasi tutto il grasso già dopo la prima estrazione; ma si può ripetere lo stesso trattamento 1 o 2 volte, per raggiungere un'estrazione affatto completa.

PFLUEGER propone il seguente metodo per determinare il grasso *in toto* di animali intieri, rapidamente.

Gli organi, comprese le ossa spezzate, vengono sciolti in una soluzione di acido citrico 5-10-20 %, tenuta in un bagno d'acqua bollente. Dopo il raffreddamento, si asporta il grasso galleggiante e si estrae il liquido rimanente con etere, in cui l'acido citrico è quasi insolubile. Gli estratti eterei raccolti sono agitati con acqua e poi evaporati. Il grasso non è scomposto dall'acido citrico.

Tuttavia PFLUEGER ritiene che l'analisi quantitativa del grasso, coi nostri metodi odierni, non solo è molto difficile, ma impraticabile.

Si evaporano ora questi estratti eterei, ottenuti in un modo o nell'altro: nei residui si trovano, oltre ai grassi neutri, anche acidi grassi, lecitina, colesterina e pigmenti.

Si tratta ora di separare queste varie sostanze:

a) Per separare gli **acidi grassi**, si agita nell'imbuto a decantazione il residuo dianzi ricordato con soluzione discretamente diluita di Na^2CO^3, e si lascia riposare il liquido per alcun tempo. Si agita il liquido con etere, che poi si decanta. Nel liquido acquoso sono rimasti sciolti gli acidi grassi in forma di saponi di sodio.

Il Na^2CO^3 non attacca i grassi neutri.

b) Per separare la **colesterina** dai grassi, si bollisce il residuo dell'estrazione eterea con soluzione alcoolica di KOH, per un certo

tempo, sul bagnomaria; la K O H non attacca la colesterina, ma saponifica gli acidi grassi e i grassi neutri. Si allontana poi l'alcool per evaporazione, e il residuo si diluisce molto con H^2O e si agita con etere. Si lascia riposare, e poi si decanta l'etere, il quale contiene solamente colesterina e un po' di saponi; ma la massima parte dei saponi è rimasta nell'acqua. Si evapora l'estratto etereo, e si lava il residuo con alcool diluito freddo acidulato con una goccia di H Cl, per allontanare ogni traccia rimasta di acidi grassi.

c) Si può ora trasformare in acidi grassi i saponi formatisi durante il trattamento *b*), acidificando bene la loro soluzione con H^2SO^4 diluito, riscaldando il liquido sul bagnomaria finchè ogni traccia di etere sia allontanata, e separando gli acidi grassi precipitatisi mediante la filtrazione. Quindi si neutralizza il filtrato con NH^3, lo si concentra a bagnomaria e lo si estrae con alcool. L'estratto alcoolico filtrato contiene la **glicerina** e un po' di solfati, che possono essere allontanati mescolando il residuo dello stesso estratto alcoolico evaporato con ossido di piombo, estraendo la massa con un po' di H^2O, precipitando l'eccesso di piombo con H^2S, filtrando e concentrando il filtrato fino alla consistenza siropposa.

La presenza della glicerina in esso può esser provata col gusto, con la reazione dell'acroleina, o assicurandosi se è capace di sciogliere l'ossido di rame o di altro metallo pesante.

d) Per separare i **saponi** preesistenti nel residuo dell'estratto etereo originale, lo si scioglie in acqua e lo si tratta con etere purissimo. Nell'acqua rimangono tutti i saponi, ad eccezione di una piccolissima quantità che passa anche nell'etere.

e) Per separare gli **acidi grassi**,, si tratta prima la massa che li contiene con H^2SO^4 diluito, e poi si estrae con etere, come si fa per l'estrazione ordinaria dei grassi, in generale. Si agita l'estratto etereo in un pallone con un po' di soluzione di Na O H, si decanta dopo un certo tempo l'etere, si lava la liscivia ancora alcune volte con etere per allontanarne i grassi eventualmente contenuti nell'estratto etereo, la si riscalda sul bagnomaria per allontanare l'etere rimastovi e la si soprassatura con H Cl.

L'acido palmitico, stearico, ecc., sono così precipitati; e per separarli, si scalda il liquido fino all'ebollizione, e dopo che, col raffreddamento successivo, gli acidi grassi si sono solidificati, si filtra.

Si prova ora il punto di fusione del miscuglio di acidi grassi così ottenuto, nel seguente modo. Si fonde la massa di acidi grassi e se ne aspira una piccola quantità in un tubo capillare. Si riempie un palloncino di acqua, lo si mette sopra un bagnomaria e si appende un termometro, in modo che il suo bulbo e il capillare ripieno degli acidi grassi, già solidificati, si trovino nel mezzo del palloncino l'uno accanto all'altro; si riscalda lentamente l'acqua di questo e si osserva

a quale temperatura avviene la fusione e poi di nuovo a quale temperatura avviene la solidificazione nella massa grassosa. Tenendo presente la seguente tabella di HEINTZ, si può molto approssimativamente calcolare la composizione del miscuglio di acido stearico e palmitico.

Un miscuglio di

ac. stearico	e ac. palmitico	fonde a	si solidifica a
90	10	67°,2 C.	62°,5 C.
80	20	65°,3 »	60°,3 »
70	30	62°,9 »	59°,3 »
60	40	60°,3 »	56°,5 »
50	50	56°,6 »	55°,0 »
40	60	56°,3 »	54°,5 »
30	70	55°,1 »	54°,0 »
20	80	57°,5 »	53°,8 »
10	90	60°,1 »	54°,5 »

Per separare poi l'**acido stearico** e l'**acido palmitico** da altre sostanze con cui possano trovarsi mescolati (acido colalico, acido litofellinico, ecc.), si agita la soluzione eterea degli acidi con un eccesso di acqua di barite, si separa il precipitato sopra un filtro, lo si lava più volte con poca acqua bollente, da ultimo con alcool caldo. Si scompone con HCl il sapone di bario, si lava con acqua abbondantemente, e si ottiene sempre sul filtro, come residuo, un miscuglio di acido palmitico e di acido stearico, o di uno o dell'altro di essi. Quindi si determina il punto di fusione del detto residuo nel modo dianzi descritto, lo si scioglie in alcool caldo, vi si aggiunge una soluzione di Na^2CO^3 per saturare gli acidi grassi, e si evapora il tutto a bagnomaria fino a secchezza; si riscalda poi in una stufa a secco il residuo alla temperatura di 130° C., si estrae la sostanza secca polverizzata finemente con alcool assoluto bollente e si filtra a caldo. Questa soluzione di palmitato e stearato sodico viene precipitata frazionatamente, così: la si riscalda sul bagnomaria fin quasi all'ebollizione, vi si aggiungono 1 o 2 gocce d'una soluzione di $BaCl^2$ o di acetato di bario, si filtra rapidamente, si riscalda di nuovo il filtrato fino all'ebollizione, si aggiunge un'altra piccola porzione della soluzione del sale di bario e si filtra di nuovo a caldo in un altro filtro, e si continua così finchè l'aggiunta del sale di bario non produce più alcun precipitato.

Il primo precipitato può contenere un po' di $BaCO^3$; gli altri precipitati, dopo essere stati lavati con alcool caldo e seccati a 120° C., vengono trattati in guisa da determinare il loro contenuto in Ba. Il calcolo poi dà la quantità rispettiva dei due acidi grassi, sapendosi che

100 parti in peso	di palmitato	di Ba	contengono	21,17 p.	di Ba
» »	» stearato	»	»	19,49 »	»

Per separare l'**acido oleico**, si può da prima operare come per gli altri due. Si neutralizza l'estratto etereo contenente l'acido con soluzione acquosa diluita di $NaOH$, si decanta l'etere, si lava la soluzione acquosa dell'oleato sodico con etere, si satura l'alcali libero con CO^2, si evapora fino a secchezza, si estrae il residuo con alcool caldo, si filtra, si precipita la soluzione alcoolica del sapone con acetato di piombo, si evapora il tutto fino a secchezza e finalmente si estrae il residuo con etere che scioglie il solo oleato di piombo. Si filtra la soluzione eterea di oleato di piombo, si scompone il sapone con HCl diluito entro un vaso prima ripieno di CO^2; l'acido oleico rimane sciolto nell'etere, si decanta la sua soluzione eterea, donde si ottiene l'acido oleico puro, distillando l'etere.

f) Per separare i vari **grassi neutri**, bisogna prima saponificarli con soluzione alcoolica di KOH o meglio con alcoolato sodico. Quindi si evapora, si scioglie il residuo di saponi in acqua e si precipita con acetato di piombo. L'oleato di piombo è separato dagli altri saponi mediante l'estrazione con etere in cui è solo solubile. Il residuo insolubile in etere è scomposto sul bagnomaria con un eccesso di soluzione di Na^3CO^2; quindi si dissecca, si polverizza, e si estrae con alcool bollente. La soluzione alcoolica di palmitato e stearato di sodio è frazionatamente precipitata con cloruro o acetato di bario, e poi si procede come in *e*).

§ 23. — 2.° **Preparazione della lecitina.** — Dal tuorlo dell'uovo di gallina si può ottenerne buona quantità. Il tuorlo è sbattuto con varie porzioni di etere, finchè questo diventa ancora giallo.

Il residuo incolore è trattato con alcool forte e scaldato per $^1/_2$ ora a 50-60° C.; si filtra; il filtrato è concentrato a bagnomaria sino a consistenza siropposa, alla stessa temperatura, e poi estratto ripetutamente con etere. Questi estratti eterei, evaporati, lasciano come residuo la lecitina, che, per ottenerla pura, può essere sciolta in cloroformio, e poi, da una soluzione cloroformica concentrata, precipitata con acetone.

Ovvero il residuo dell'estratto etereo è sciolto in poco alcool assoluto; da questa soluzione alcoolica raffreddata a — 5°-10° C si separa la lecitina in forma granulare.

Secondo GILSON, si estrae il tuorlo con etere, si distilla questo, si scioglie il residuo in etere petrolico, si filtra, e si mescola il filtrato dell'estratto petrolico con alcool 75°/₀ nell'imbuto a separazione. Dopo aver qui lungamente agitato, si lascia chiarire il liquido, si decanta l'alcool, e si agita più volte lo stesso estratto petrolico con nuove porzioni di alcool 75 °/₀. Gli estratti alcoolici riuniti e filtrati sono liberati per distillazione del resto di etere petrolico, e poi lasciati per più giorni in un luogo freddo. Si precipita la colesterina insieme con altre impurità; si filtra; il filtrato è decolorato con car-

bone animale, e poi concentrato alla temperatura di 50°-60° C. fino a consistenza siropposa. Questo siroppo è sciolto in etere filtrato, evaporato. Nel residuo, fatto di lecitina, possono ancora trovarsi tracce di colesterina, che si possono allontanare, sciogliendo il residuo in poco alcool assoluto, e lasciando questa soluzione a una temperatura di — 5°-15° C.

Si può anche precipitare la lecitina dalla sua soluzione alcoolica con una soluzione alcoolica di $Pt\,Cl^4$ o $Cd\,Cl^4$; il precipitato giallo è poi lavato con etere, e liberato del metallo mediante l' H^2S. Il cloridrato di lecitina che così si forma è sciolto in alcool ed etere, agitato con ossido d'argento, filtrato, e l'Ag in eccesso allontanato con H^2S. Si filtra per allontanare il solfuro d'argento, e dal filtrato si ottiene la lecitina evaporandolo fino a secchezza.

Questo processo della precipitazione col cloruro di Pt o di Cd può servire anche per la dimostrazione qualitativa della lecitina.

§ 24. **Determinazione quantitativa della lecitina, colesterina, colina, grassi.** — In determinati volumi di liquidi si precipitano le sostanze proteiche, ecc., con alcool; gli organi, pesati, sono finemente spezzettati ed estratti con alcool. I residui sono, in generale, estratti novamente con alcool a 50-60° C. più volte; gli estratti alcoolici riuniti ed evaporati a lieve calore, facendo attenzione ch'essi abbiano sempre reazione neutra. Il residuo dell'evaporazione è estratto con un miscuglio di alcool ed etere; dal filtrato l'etere è allontanato mediante la distillazione; la soluzione alcoolica è concentrata a bagno maria fino a consistenza siropposa. Ivi si trova: lecitina, colesterina, ordinariamente anche protagono, cerebrina, grassi, colina, ecc. Si aggiunge al liquido siropposo un po' di soluzione concentrata di barite caustica, e si fa bollire per 1 ora, agitando; quindi si precipita la barite in eccesso con CO^2, si filtra a caldo, si evapora il filtrato a bagno maria e si tratta il residuo con alcool assoluto, che scioglie la **colina**, ma lascia indietro il glicerofosfato di bario. Si scioglie quest'ultimo con acqua, e nell'estratto alcoolico si precipita la colina con soluzione alcoolica di $Pt\,Cl^4$. I saponi di bario rimasti indisciolti sono ora decomposti con H Cl. La **colesterina** e gli **acidi grassi** vengono allontanati, agitando con etere in un imbuto a decantazione. Si aggiunge a questa soluzione eterea decantata della soluzione di Na O H diluita, per separare gli acidi grassi in forma di saponi di sodio, mentre la colesterina rimane sciolta nell'etere, donde si ottiene per evaporazione di questo.

In questo metodo, la lecitina è decomposta dalla bollitura con barite, e può esser determinata quantitativamente dai suoi prodotti di scomposizione, e propriamente determinando il contenuto in P dell'estratto alcoolico-etereo primitivo, poi che nè l'acido fosforico nè i sali dell'acido fosfoglicerico sono solubili in alcool ed etere.

Data la formula della lecitina, questa contiene 8,798 °/₀ di $P^2 O^5$. Onde, per sapere la quantità in peso di lecitina contenuta in un liquido o in un organo, si moltiplica la quantità trovata di $Mg^2 P^2 O^7$ per 7,2703, se si tratta di stearinlecitina, per 7,2342, se si tratta di oleinlecitina, e per 6,9811, se si tratta di palmitinlecitina. Ma il metodo non dà resultati attendibili, perchè gli estratti alcoolico-eterei possono contenere altre sostanze fosforate, come la jecorina e il protagono.

Per eseguire la suddetta **determinazione quantitativa di P** nell'estratto etereo primitivo dell'organo o della sostanza, contenente tutta la lecitina, si procede nel seguente modo.

La sostanza è mescolata e tritata con un miscuglio di $Na^2 C O^3$ e $Na N O^3$ secchi in una capsula di porcellana, o meglio di platino, e cautamente riscaldata, fino a che scomparisca ogni traccia di carbone. La massa calcinata, dopo il raffreddamento, è sciolta in acqua, il liquido è soprassaturato con $H N O^3$ entro bicchierini coperti, poi un po' evaporato. Quindi vi si aggiunge, alla temperatura di 50° C., della soluzione nitrica di molibdato d'ammonio; dopo 12 ore, il precipitato che si forma è raccolto sopra un filtro e poi sciolto in $N H^3$. Vi si aggiunge della mistura magnesica in abbondanza. Il precipitato di fosfati (derivanti esclusivamente dalla lecitina), che si forma, è raccolto, lavato, disseccato, calcinato e pesato, in forma di pirofosfato magnesico ($Mg^2 P^2 O^7$): 100 parti di questo sale corrispondono a 765,4 parti di lecitina, circa.

Un metodo breve, se non completamente esatto, per determinare la quantità delle varie sostanze grasse, della lecitina, colesterina, ecc. è il seguente, di HALLIBURTON.

Il residuo dell'estratto etereo evaporato dell'organo, perfettamente triturato e mescolato, è trattato con soluzione alcoolica di $K O H$, a caldo; quindi il liquido è evaporato a bagnomaria, finchè tutto l'alcool sia eliminato. Il residuo contenente: $K O H$, colesterina, i prodotti di sdoppiamento dei grassi neutri (glicerina, saponi di K) e i prodotti di sdoppiamento della lecitina (colina, glicerofosfato di K, saponi di K), è sciolto in $H^2 O$, e il liquido è poi trattato e agitato ripetutamente con varie porzioni di etere.

Si decanta l'etere in un imbuto a separazione; in esso trovasi la sola **colesterina**, poichè nessun'altra delle sostanze nominate dianzi è solubile in etere; si evapora l'etere, e il residuo di colesterina si pesa. Il liquido acquoso rimasto si evapora sino a secchezza, e nel residuo si determina il P (v. sopra): si ha così la quantità di **lecitina**. I saponi, separati col metodo sopra indicato, daranno il contenuto totale in grassi neutri e acidi grassi.

Nel caso che vi si trovi anche cerebrina, questa dovrebbe esser determinata a parte (ved. in seguito).

§ 25. **Preparazione dei lipocromi.** — Per separare i lipocromi, si aggiunge alla soluzione alcoolica dei grassi della soluzione di KOH, e si bollisce, finchè tutti i grassi siano saponificati. Quindi si allontana l'alcool per evaporazione, e si trasformano i saponi di K o di Na in saponi insolubili di Ca, mediante l'aggiunta di $CaCl^2$. Dopo il raffreddamento, si agita in un imbuto a separazione la poltiglia dei saponi, contenente i lipocromi, con etere petrolico; quindi si lascia riposare, si decanta l'etere, si evapora e così si ottengono i lipocromi puri. Alcuni lipocromi rossi non si lasciano facilmente estrarre con questo processo; ma per ottenerli basta scomporre, prima dell'estrazione, i saponi mediante un acido minerale.

§ 26. Per preparare la **coprosterina**, si disseccano a bagno maria le feci, si tritano finemente e si estraggono con etere nell'estrattore di Soxhlet. L'estratto etereo, che contiene principalmente grasso, acidi grassi e coprosterina, è saponificato con alcoolato di $NaOH$, secondo il metodo di Kossel e Obermüller. Quindi si filtra, per allontanare i saponi, e si evapora l'etere. Ma questi saponi in questo modo non vengono tutti allontanati. Per ciò è bene, dopo l'evaporazione dell'etere, aggiungere dell'acqua, evaporare tutto l'alcool rimasto a bagno maria, quindi aggiungere novamente dell'acqua e agitare con etere. Questo estratto etereo è ora affatto privo di saponi e contiene la coprosterina.

§ 27. — 1.° **Preparazione del protagono.** — Si libera completamente la massa cerebrale dal sangue e dalle membrane connettivali, la si spezzetta e la si lascia per alcuni giorni in alcool. Si versa poi l'alcool, si tritura assai finemente la massa, la si digerisce per più ore in alcool a 85 %, alla temperatura di 45° C., e quindi si filtra alla stessa temperatura.

Il residuo non sciolto viene trattato più volte allo stesso modo, finchè dal filtrato alcoolico, raffreddato a 0° C., non si separa più alcun precipitato fioccoso.

I filtrati caldi sono raffreddati a 0° C., e tutti i precipitati raccolti insieme sono trattati con etere freddo, allo scopo di allontanare la colesterina e la lecitina. Il residuo è spremuto fra carta bibula, disseccato sull'acido solforico o in P^2O^5, poi triturato in poca acqua, quindi scaldato assai lentamente in alcool fino a 45° C.

Raffreddando questo liquido a 0° C., si separa il protagono abbastanza puro. Ma per purificarlo ancora più, si ripete due o tre volte la stessa manipolazione, discioglierlo lentamente in alcool e lasciarlo cristallizzare anche lentamente a freddo.

2.° **Preparazione dei cerebrosidi.** — Si trita la massa cerebrale con acqua di barite, fino ad ottenere un liquido d'aspetto lattiginoso, che poi si fa bollire. Il residuo non disciolto viene ora separato, spremuto, estratto con alcool ed etere freddi e quindi trattato a lungo

con alcool caldo. Raffreddando a 0° C. questo estratto alcoolico filtrato a caldo, si separa la cerebrina, ancora mescolata con un po' di grassi e di colesterina. Estraendo ripetutamente questo precipitato prima con etere freddo e poi ripetutamente ricristallizzandolo dall'alcool caldo, si riesce ad ottenere la sostanza pura, di reazione affatto neutra e priva di fosforo. Secondo PARCUS, bisogna ripetere il trattamento con alcool caldo, finchè non si formino a freddo precipitati gelatinosi di omocerebrina o di encefalina.

KOSSEL e FREYTAG sciolgono il protagono puro in alcool metilico, vi aggiungono una soluzione calda di barite caustica in alcool metilico, e riscaldano tutto il liquido per alcuni minuti sul bagno di acqua, per saponificare il protagono. Il voluminoso precipitato che si forma contiene tutta la cerebrina che si può liberare dal protagono (circa il 50 %); esso è suddiviso in acqua e liberato dalla barite mediante CO^2. La parte che non si è sciolta in acqua è scaldata in alcool, e raffreddando poi questa soluzione alcoolica, la cerebrina precipita. Si può purificarla ricristallizzandola più volte dall'alcool.

2. — *PRODOTTI DELLA DIGESTIONE DEI GRASSI.*

§ 28. I **grassi liberi** propriamente detti nello stomaco sono semplicemente fusi o almeno rammolliti; e quelli contenuti entro cellule animali o vegetali diventano liberi e possono confluire, perchè il succo gastrico digerisce le pareti protoplasmatiche di quegli elementi morfologici.

È stato però anche osservato che una piccola quantità di grasso neutro può essere scisso in glicerina e acidi grassi (KLEMPERER e SCHEURLEN); ma sembra più probabile che ciò sia dovuto all'azione di fermento pancreatico penetrato accidentalmente nello stomaco, che all'azione del succo gastrico stesso.

Si comprende agevolmente che una gran quantità di grasso liquido nello stomaco deve ostacolare meccanicamente l'azione del succo gastrico sulle materie proteiche, e quindi riescir dannosa alla digestione peptica.

Per l'azione combinata del succo pancreatico e della bile, nell'intestino i grassi vengono a trovarsi essenzialmente allo stato di una fine emulsione.

I grassi che noi introduciamo come alimenti non sono mai perfettamente neutri; essi contengono sempre una quantità più o meno grande di **acidi grassi** disciolti.

Per avere un grasso perfettamente neutro, bisogna fabbricarselo artificialmente così: Si prende dell'olio d'oliva comune e lo si cuoce a lungo in una capsula con poca acqua di barite. Dopo il raffredda-

mento si agita il liquido con etere, che scioglie il grasso non saponificato, il quale è perfettamente neutro, tutti gli acidi grassi essendo stati a preferenza legati dalla $Ba(OH)^2$. Si decanta la soluzione eterea in un imbuto a separazione, e la si conserva in una boccia ben chiusa. Volendo una certa quantità di oleina neutra, si evapora l'etere da una porzione della soluzione eterea. Ma se si lascia all'aria l'oleina così ottenuta, dopo pochi giorni vi si può dimostrare la presenza di acido oleico facendo agire l'olio sopra una soluzione alcoolica di acido rosolico perfettamente neutra. Un tale grasso perfettamente neutro mescolato con una soluzione diluita di Na^2CO^3 non si emulsiona.

L'emulsione avviene invece rapidamente se l'olio contiene una certa quantità di acido grasso (Bruecke, Gad). E se ne comprende facilmente la ragione. Un olio avente reazione acida, un olio rancido dev'essere considerato come una soluzione di acido grasso nel corrispondente trigliceride, che fa da solvente; e, come in ogni soluzione vera, si deve pensare che le molecole dell'acido grasso si trovano disseminate dappertutto fra le molecole del trigliceride. Se ora viene a contatto di quest'olio rancido una soluzione di Na^2CO^3, le molecole di questo sale diffondendosi fra le molecole dell'olio andranno a combinarsi con le molecole dell'acido grasso, formando altrettante molecole di sapone di sodio. Ne viene di conseguenza che le particelle di grasso neutro verranno a trovarsi circondate da ogni lato da uno strato continuo di sapone di sodio disciolto nell'acqua della soluzione salina aggiunta all'olio, e che il sapone di sodio formerà, come a dire, in sezione ottica, un finissimo reticolo, le cui maglie sono ripiene di grasso neutro. Questa è un'emulsione. L'emulsione si fa tanto più facilmente quanto più acido è il grasso; e anzi, secondo Gad, date certe condizioni di acidità del grasso e di alcalinità della soluzione sodica, l'emulsione ha luogo spontaneamente, senza che vi sia bisogno di scuotere e agitare il miscuglio.

Secondo Munk anche gli acidi grassi liberi separati da poco dai loro gliceridi sono emulsionabili. Facendo agire, infatti, sopra di essi una quantità piccolissima di Na^2CO^3, che non basterebbe a legare tutti gli acidi grassi esistenti, essi si emulsionano, alla temperatura del corpo, benchè non così rapidamente come i grassi neutri contenenti una piccola quantità di acidi grassi.

Se ad una emulsione ordinaria di grasso si aggiunge un po' di acido, in modo da trasformare la reazione alcalina in acida, l'emulsione non viene immediatamente distrutta, ma le finissime goccioline adipose confluiscono in gocce oleose più grandi, che man mano si uniscono negli strati superiori del liquido. Se prima di acidificare un'emulsione, la si tiene per un certo tempo a contatto con succo pancreatico, il fenomeno si verifica allo stesso modo, ma nello strato supe-

riore cremoso si trovano una quantità di acidi grassi, oltre alle grosse gocce di grasso neutro. Le emulsioni fatte dal succo pancreatico non resistono più di quelle comuni all'azione degli acidi.

In modo molto diverso si comporta il latte, che può anche considerarsi come un'emulsione naturale. Se si coagula il latte con caglio, e i coaguli si fanno digerire con pepsina e H Cl, si ottiene un'**emulsione acida**, contenente albumosi e peptone, la quale permane a lungo, non ostante la reazione acida. Nemmeno alcalinizzando il liquido con $Na^2 C O^3$ in eccesso e poi di nuovo acidificandolo con H Cl, si riesce a distruggere l'emulsione. Solo dopo molti giorni il liquido lasciato in riposo si rischiara, perchè le finissime goccioline di grasso si sono sollevate negli strati superiori, formando uno strato di crema.

Dunque la presenza di acidi grassi nei grassi dell'alimentazione favorisce di molto la loro emulsione nel tubo digerente, dove non manca il carbonato sodico, che è fornito dal succo pancreatico ed enterico.

Lo svilupparsi dell'$C O^2$, in seguito alla combinazione dell'acido grasso col $Na^2 C O^3$, deve anche meccanicamente favorire il processo dell'emulsione.

Ma ad assicurare questo processo provvede uno speciale fermento (la **steapsina**) secreto dal pancreas; così che anche se vengono ingeriti grassi perfettamente neutri, nell'intestino si trovano sempre contemporaneamente, a un certo periodo della digestione pancreatica, trigliceridi, acidi grassi, saponi e glicerina libera, il tutto in forma di emulsione.

Se non che l'emulsione non può avvenire, se non quando il mezzo in cui deve verificarsi sia alcalino. Ora si sa che, almeno nell'intestino tenue, la reazione del contenuto intestinale è normalmente acida. Come si possa conciliare questo fatto col verificarsi dell'emulsione, non si saprebbe dire. Probabilmente l'emulsione del grasso nell'intestino non ha luogo per un processo così semplice come quello secondo cui si forma *in vitro*, ed altre forze intervengono ad assicurarne l'esistenza.

Come abbiamo detto, la steapsina scinde una parte dei trigliceridi in acidi grassi, che poi formano saponi combinandosi cogli alcali intestinali, e glicerina. Ma la massima parte dei grassi neutri non subisce alcuna modificazione oltre quella puramente meccanica dell'emulsione.

Secondo Munk, solo il 12 % del grasso neutro è scomposto nell'intestino tenue del cane; ma come il contenuto intestinale avanza verso l'ileo e il crasso, la scomposizione procede sempre, così che del grasso espulso nelle feci il 75-90 % si trova in forma di acidi grassi e di saponi. Questa scomposizione non è dovuta però che in piccola parte alla steapsina; essa è operata principalmente da mi-

crorganismi, in diversa misura a seconda delle diverse specie animali. I prodotti della scomposizione batterica dei grassi non sono però utilizzati, perchè gli stessi o altri microrganismi scompongono ulteriormente gli acidi grassi in altre sostanze più semplici.

La scissione dei grassi neutri, prodotta dal succo pancreatico, ha luogo con assunzione d'acqua, secondo il seguente schema:

$$\underbrace{C^3H^5 . O^3 . R^3}_{\text{(grasso neutro)}} + 3\,H^2O = \underbrace{C^3H^5 . O^3 . H^3}_{\text{(glicerina)}} + \underbrace{3\,(H . O . R)}_{\text{(acido grasso)}} .$$

Si tratta dunque di una scissione idrolitica, quale fu riconosciuta da BERNARD e da BERTHELOT.

Allo stesso modo, sotto l'azione della steapsina, si scompongono altri eteri composti.

Della **lecitina** introdotta cogli alimenti (nel cervello, tuorlo d'uovo, legumi, mais, ecc.), una parte passa direttamente nelle feci, senza subire alcuna modificazione (BOKAY, POLITIS), ma una parte è scissa dalla steapsina in acidi grassi, colina e acido fosfoglicerico. I primi si saponificano, quest'ultimo è assorbito tal quale o in forma di sale sodico.

Finalmente una terza parte della lecitina è assorbita come tale, prima di aver subìto la scomposizione suddetta. Secondo v. WALTHER, quando gli alimenti sono poveri di lecitina, viene riassorbita quella che resulta dalla distruzione degli epiteli intestinali.

Come la steapsina, agiscono alcuni microrganismi anaerobi sulla lecitina. In questo caso, però, la **colina** subisce un'ulteriore scomposizione in CO^2, CH^4 e NH^3, che non dà luogo alla formazione di prodotti tossici. Se la scomposizione batterica della colina si fa, invece, in presenza di O, si forma neurina e muscarina. Importante è dunque, per questo riguardo, la mancanza di O nell'intestino.

La **colesterina**, essendo da considerarsi come un prodotto catabolico dell'attività degli elementi cellulari, comparisce nel tubo digerente solo come sostanza escrementizia. Un assorbimento di colesterina non esiste.

Non si sa nulla di preciso sulle modificazioni che subiscono nel tubo intestinale il protagono, i cerebrosidi, che pur vengono talora introdotti in quantità considerevole (cervello, midollo spinale, ecc.), e i lipocromi. Probabilmente il protagono e i cerebrosidi vengono scomposti dal succo gastrico, come sono scomposti *in vitro* da acidi minerali diluiti, e i prodotti di scomposizione vengono poi nell'intestino a seconda della natura loro saponificati o scomposti ulteriormente o assorbiti.

3. — *ASSORBIMENTO E ASSIMILAZIONE DEI GRASSI E SOSTANZE AFFINI.*

§ 29. Ciò che possiamo dire intorno all'**assorbimento dei grassi** non è intieramente sicuro.

In generale, gli autori ammettono che la massima parte del grasso è assorbito come tale, in forma di goccioline minutissime, per opera dell'attività specifica di prolungamenti protoplasmatici delle cellule dell'epitelio intestinale, lo stato di emulsione facilitando tale processo di assunzione meccanica sopra una grande superficie. Quella parte del grasso che si è saponificata, per combinazione degli acidi grassi, preesistenti o derivanti dalla scissione enzimatica dei grassi neutri, con gli alcali della bile, del succo pancreatico ed enterico, sarebbe solamente assorbita in forma di soluzione di sapone.

Anche la glicerina sarebbe assorbita come tale. Non è escluso nemmeno l'assorbimento di grassi neutri non emulsionati, poichè i grassi che hanno un punto di fusione così alto da rimaner solidi o appena rammolliti alla temperatura del tubo digerente, e che per ciò non possono essere emulsionati, sono pure in piccola parte assorbiti e si ritrovano nelle vie chilifere (MUNK, ROSENSTEIN).

Vari fattori si son rivelati essere della massima importanza nella funzione dell'assorbimento dei grassi.

Oltre a quelli accennati sopra (più o meno completa emulsione, ecc.), va qui ricordata l'influenza del succo pancreatico, e della bile. Ma se è facile intendere l'influenza del succo pancreatico, che col suo fermento scinde una parte dei grassi neutri e coi suoi alcali permette il loro emulsionarsi, non così facilmente s'intende in che consista l'azione della bile.

In seguito all'esportazione del pancreas, è stato osservato che il contenuto del tenue ha reazione acida, e che per ciò l'emulsione e l'assorbimento dei grassi si compiono male, mentre l'assorbimento del grasso già emulsionato, come quello del latte, ha luogo normalmente. Se però, nelle stesse condizioni, si aggiunge all'alimentazione grassa del pancreas di bue finemente tritato, il grasso ingerito è in parte scisso dalla steapsina, e in parte emulsionato, e così assorbito. Ma questa influenza del pancreas sulla reazione del contenuto intestinale e di conseguenza sull'emulsione dei grassi alimentari non esiste probabilmente in tutti gli animali; negli erbivori, per esempio, l'intestino contiene sufficiente quantità di alcali per saponificare ed emulsionare i grassi ingeriti, e in questi animali, infatti, l'assorbimento dei grassi ha luogo anche dopo la legatura del dotto pancreatico (TEICHMANN). Probabilmente anche in altri animali e nell'uomo un disturbo nella secrezione del succo enterico avrà aggravato le

poco propizie condizioni all'emulsione e assorbimento dei grassi, che si verificano per lesioni o soppressioni del pancreas.

L'importanza della bile è stata messa in evidenza dai fisiologi con molte esperienze. Soppressa l'entrata della bile nell'intestino, si assorbe $^1/_2$-$^1/_7$ del grasso che si assorbe in condizioni normali; e sono assorbite più facilmente le porzioni più facilmente fusibili del grasso ingerito, mentre i grassi più solidi incontrano una difficoltà doppia ad essere assorbiti di quella che incontrano in condizioni normali; l'80-90 % del grasso espulso nelle feci resulta di acidi grassi, mentre in condizioni normali il grasso contenuto nelle feci è composto di 1 parte di grasso neutro e di 2-2 $^1/_2$ parti di acidi liberi, quasi che la mancanza della bile o rendesse difficile la saponificazione degli acidi grassi derivanti dall'azione enzimatica del succo pancreatico, o permettesse ai microrganismi dell'intestino un'eccessiva scissione dei grassi neutri.

Ciò, non ostante, anche in assenza di bile, quantità considerevoli di grassi sono assorbite, e, forse, l'influenza della bile è più che altro coadiuvante la funzione pancreatica, e stimolante il protoplasma nudo delle cellule epiteliali assorbenti il grasso.

Così che dobbiamo, per ora, contentarci di sapere che l'assorbimento dei grassi è molto favorito dalla presenza simultanea del succo pancreatico e della bile; che, probabilmente, il primo agisce per il suo fermento e per i suoi alcali, e la seconda sia per la sua reazione alcalina, sia per i suoi sali biliari che facilitano la soluzione dei grassi aventi un punto di fusione più elevato, sia perchè diminuisce l'azione dei microrganismi intestinali. Il succo pancreatico e la bile non agiscono, dunque, per una o poche cause fondamentali, ma per una quantità di condizioni, che nel loro insieme favoriscono, sia chimicamente sia fisiologicamente, l'utilizzazione dei grassi ingeriti.

Altri fattori importanti dell'assorbimento dei grassi, sono la natura di questi e il loro punto di fusione. I grassi aventi un punto di fusione molto alto, come il sego di cammello e la stearina, non solamente sono assorbiti meno completamente degli altri, ma il loro assorbimento si verifica anche molto più lentamente (MUNK, ARNSCHINK, ROSENSTEIN). La seguente tabella dimostra l'importanza del punto di fusione sull'assorbimento dei grassi:

Grassi	Punto di fusione	Perdita nelle feci
1. Stearina	60° C.	91-86 %
2. Miscuglio di stearina e olio di mandorle .	55° »	10.6 »
3. Sego di cammello . .	52° »	9,15 »
4. Sego di cammello . .	49° »	7,4 »
5. Lardo di maiale . .	43° »	2,58 »
6. Grasso di maiale . .	34° »	2,5 »
7. Grasso di oca . . .	25° »	2,5 »
8. Olio d'oliva	liquido	2,3 »

Da questa tabella resulta anche evidentemente che grande è l'utilizzazione dei grassi ingeriti. Un cane di VOIT assorbiva 346 gr. dei 350 gr. di grasso che introduceva giornalmente. Secondo RUBNER l'uomo può assorbire fino a 300 gr. di grassi al giorno. Inoltre l'assorbimento del grasso è meno influenzato dalla presenza di scorie indigeribili nell'alimentazione, che l'assorbimento degli idrati di carbonio o dei proteici: mentre, infatti, di un pasto di patate contenente 11,45 gr. di N e 143,8 gr. di burro andò perduto il 32,2 % dell'N, del grasso andò perduto (nelle feci) solamente 3,7 % (RUBNER).

Dalla tabella resulta che fra 43° e 49° C. trovasi il limite di fusione oltre il quale il grasso comincia ad essere poco utilizzato, e che un grasso fondente a 55° C. quasi non è assorbito. Per quanto riguarda l'uomo, si sa che il sego di cammello è in buona parte assorbito, mentre la lanolina (che ha un punto di fusione = 55-56° C.) passa, quasi senza subire alcuna modificazione, nelle feci.

In generale, d'un miscuglio di grassi aventi vario punto di fusione, sono assorbiti più completamente e rapidamente quelli che hanno un punto di fusione più basso.

Più facile è l'assorbimento del grasso se viene introdotto in forma libera (burro, olio, grasso di maiale fuso, ecc.), anzi che se esso è ancora contenuto entro gli elementi cellulari del tessuto adiposo (lardo di maiale — RUBNER)

La presenza di una certa quantità di acido grasso ne facilita l'assorbimento, perchè, come abbiamo detto, favorisce la sua saponificazione e l'emulsione nell'intestino. Per ciò è molto digeribile l'olio di fegato di merluzzo. V. MERING ha proposto un nuovo preparato alimentare, composto di olio d'oliva contenente il 6 % di acido oleico, al quale ha dato il nome di **lipanina**.

Del resto, l'assorbimento del grasso è variabile a seconda dei diversi individui.

Sembra che l'alcool, semplicemente per le sue proprietà eupeptiche, l'acqua di calce, solo nei casi in cui nell'intestino si verificano abnormi fermentazioni e formazione di quantità di acidi che la $Ca(OH^2)$ neutralizza, e le sostanze proteiche, evidentemente perchè stabiliscono le buone condizioni nutritive degli elementi epiteliali assorbenti e forse anche perchè contribuiscono all'emulsione dei grassi nell'intestino, favoriscano l'assorbimento dei grassi, in generale.

§ 30. Sotto qualunque forma i grassi siano stati introdotti, essi ricompariscono sempre, al di là dell'epitelio intestinale, in forma di grassi neutri. E poichè lo stesso si osserva, nutrendo gli animali con acidi grassi o con saponi, con o senza aggiunta di glicerina, è necessario ammettere che negli elementi cellulari dell'epitelio intestinale, o, più generalmente, negli elementi morfologici della mucosa e dei villi intestinali (PERCWOZNIKOFF), in cui il grasso neutro da

prima ricomparisce in forma di minutissime granulazioni, si compie la sintesi di questi trigliceridi dai saponi assorbiti dal contenuto intestinale con glicerina, la cui provenienza non è stata ancora accertata. EWALD ha dimostrato che anche la parete intestinale asportata dall'organismo, sopravvivente, ha la proprietà di compiere la sintesi dei grassi neutri dagli acidi grassi e dalla glicerina.

I grassi passano poi nelle vie linfatiche del villo, donde confluiscono verso i chiliferi intestinali per portarsi finalmente nel dotto toracico, il cui contenuto, durante l'assorbimento dei grassi, assume un aspetto lattescente, e poi al sangue. In una donna, MUNK e ROSENSTEIN trovarono 60 % del grasso ingerito nel chilo, e di questo solamente il 4-5 % si trovava in forma di saponi. Anche in seguito all'introduzione di acidi grassi (acido erucico) estranei all'organismo, essi ne trovarono il 37 % in forma di grasso neutro (trigliceride dell'acido erucico) nel chilo.

Ma la linfa non è la via esclusiva per cui il grasso assorbito penetra nell'organismo; anzi, secondo O. FRANK, solo una piccola parte del grasso assorbito si ritrova nel dotto toracico. Lo stesso osservò WALTHER nutrendo dei cani con acidi grassi: mentre dall'intestino erano scomparsi 40-50 gr. di grassi, nella linfa non potè ritrovarne che pochi grammi. Altre esperienze di FRANK dimostrano che, legato il dotto toracico, l'assorbimento dei grassi ha luogo poco diversamente dal normale; certo l'animale non ne soffre tanto quanto prima si credeva.

Per quanto riguarda, per dir così, la morfologia dell'assorbimento dei grassi, ecco come HEIDENHAIN riassume lo stato presente delle nostre cognizioni.

1) Nell'**interno dello strato epiteliale**:

a) il grasso passa a traverso le stesse cellule epiteliali, vale a dire a traverso il loro protoplasma (la maggior parte degli osservatori);

b) il grasso si muove solo fra le cellule epiteliali, vale a dire a traverso gli strati della sostanza amorfa che le cementa (WATNEY);

c) il grasso batte entrambe le vie;

d) il grasso è assorbito esclusivamente dai leucociti penetranti a traverso lo strato epiteliale (ZAWARYKIN), ovvero i leucociti compiono in condizioni normali questa funzione, e le cellule epiteliali intervengono solamente quando nell'intestino trovasi un eccesso di grasso emulsionato (SCHAEFER).

2) Nell'**interno del parenchima dei villi**:

a) il grasso è trasportato da un sistema di cellule connettivali, fra loro anastomizzate, dall'epitelio al chilifero centrale (HEIDENHAIN, EIMER, THANHOFER);

b) il grasso si muove nell'interno dei fascetti connettivali che formano l'impalcatura trabecolare del villo (BASCH, BRANDT);

c) il grasso è trasportato esclusivamente dai leucociti verso e nell'interno del vaso chilifero (ZAWARYKIN, SCHAEFER).

3) Nell'**interno dei vasi:**

a) il grasso penetra esclusivamente nei vasi linfatici, prima di giungere nel sistema circolatorio sanguigno generale (la maggior parte degli autori);

b) anche i vasi sanguigni partecipano sin da principio al trasporto del grasso in quantità considerevole (FRANK, WALTHER, FOSTER).

Tutti questi osservatori ammettono però tacitamente che i grassi sono assorbiti, almeno per la massima parte, in forma di goccioline minutissime dall'emulsione grassosa contenuta nell'intestino.

Ma recentemente nuove idee sono sorte intorno alla forma in cui i grassi sono assorbiti, idee che starebbero in assoluta opposizione a quelle che finora hanno dominato. MOORE e ROCHWOOD, che da ultimo si sono occupati di tale questione, ammettono che la forma in cui il grasso è assorbito varia considerevolmente a seconda degli animali, e che la **massima parte del grasso, se non tutto, è assorbito non in forma di grasso neutro finemente diviso in goccioline per emulsione, ma in forma di acidi grassi disciolti o di saponi, e per un'attività speciale delle cellule epiteliali.** I fatti, sopra i quali queste affermazioni sono basate, sono i seguenti:

1. Gli acidi grassi sono solubili nella bile del bue, della pecora, del cane, ecc., anche alla temperatura del corpo, e tale solubilità è tanto grande ch'essi possono raggiungere una concentrazione molto maggiore di quella che possono raggiungere altri prodotti della digestione nel contenuto intestinale (zucchero, albumosi, peptone).

2. La regione dell'intestino del cane, il cui contenuto presenta reazione acida alla laccamuffa, contiene disciolti acidi grassi e saponi, mentre la parte che presenta reazione alcalina contiene probabilmente solo saponi.

3. Mai dagl'istologi è stato visto un granulo di grasso nel margine striato della cellula epiteliale; mai è stato, dunque, colpito il momento dell'ingresso delle goccioline di grassi neutri, e sempre queste sono state osservate al di là del margine striato, nell'interno del protoplasma cellulare.

4. KREHL e ALTMANN hanno osservato nell'epitelio intestinale di animali sacrificati a vari periodi della digestione di grassi (olio d'oliva, crema) un graduale accrescimento dei globuli grassosi contenuti nel protoplasma cellulare, accrescimento che va di pari passo col progredire del periodo dell'assorbimento. Essi hanno anche osservato che, in sul principio, i piccoli granuli sono formati da un centro chiaro (granulo proteico) circondato da un alone di grasso tinto in nero dall'acido osmico. Questo fatto può spiegarsi con una forma-

zione attiva per sintesi dei grassi neutri dagli acidi grassi liberi o assorbiti in forma di saponi, e non con un ingresso di goccioline di grassi neutri. Per ciò ALTMANN ammette che il grasso sia assorbito esclusivamente in forma di acidi grassi sciolti, giacchè la presenza di saponi in quantità notevoli sarebbe resa impossibile dall'acidità del contenuto intestinale. Secondo lo stesso autore, che invoca le esperienze di STRECKER e di LATSCHINOFF sulla solubilità degli acidi stearico e palmitico nell'acido taurocolico, e di KUEHNE, il quale pure osservò che la bile scioglie e saponifica gli acidi grassi, gli acidi grassi messi in libertà dal grasso neutro per opera del fermento pancreatico, come sono sciolti negli acidi biliari vengono assorbiti, e nuove porzioni di grassi neutri vengono decomposte in glicerina e acidi grassi, che sostituiscono quelli assorbiti, e così via; così che esisterebbe una decomposizione ciclica di grasso neutro, cui seguirebbe soluzione degli acidi grassi nei sali biliari e assorbimento di essi per via delle cellule epiteliali, in cui si ricostituirebbero in forma di grassi neutri.

5. CASH e LUDWIG hanno osservato un attivo assorbimento di grasso (come era dimostrato dalla sua presenza nei chiliferi) da porzioni d'intestino contenenti un liquido affatto chiaro, senza traccia di emulsione.

6. MOORE e ROCHWOOD hanno osservato che nelle provette, in cui essi sperimentavano la solubilità degli acidi grassi nella bile o dei grassi nel contenuto intestinale filtrato, non si formò mai una vera emulsione, ma gli acidi grassi e il grasso erano semplicemente disciolti. Con ciò non negano che l'emulsione dei grassi neutri abbia anche una grande importanza, **perchè aumenta la superficie di contatto coi succhi destinati a trasformarli in quella forma in cui dovranno essere assorbiti.**

Nulla, dunque, si oppone ad ammettere l'assorbimento dei grassi in forma di acidi grassi sciolti nei sali biliari. Ma alla formazione di una quantità considerevole di saponi, si può opporre:

1.° che il contenuto dell'intestino del cane ha reazione acida, e non potrebbe per ciò contenere a lungo del sapone, che sarebbe decomposto dall'acido libero (MUNK);

2.° che gli alcali contenuti nei succhi digerenti non sarebbero sufficienti a saponificare tutti gli acidi grassi e a neutralizzare il chimo acido (MUNK).

Ma alla prima obiezione si può rispondere che l'acidità del contenuto intestinale del cane, o di altro animale, è dovuta agli stessi acidi grassi, nel periodo in cui si trovano liberi, o ad altri acidi organici deboli, che non son capaci di decomporre i saponi.

Alla seconda obiezione MOORE e ROCHWOOD rispondono, molto ingegnosamente, esser possibilissimo che gli alcali degli stessi saponi

assorbiti, dopo essere stati messi in libertà durante la sintesi dei trigleceridi nell'interno delle cellule epiteliali, siano da queste espulsi verso l'intestino anzichè verso il sangue, così che la stessa quantità di alcali sarebbe sufficiente a saponificare successivamente una quantità considerevole di acidi grassi.

Non neghiamo che ulteriori ricerche siano necessarie a ribadire questi recenti molto interessanti resultati sul meccanismo dell'assorbimento dei grassi. Ma non neghiamo nemmeno che queste nuove idee che ora sorgono intorno all'importante argomento valgono almeno a liberarci dalla repugnanza che noi prima si sentiva ad ammettere che dei principali alimenti solo i grassi nell'intestino non subissero, in massima parte, che una modificazione puramente fisica, e che il loro assorbimento dovesse compiersi tanto diversamente dagli altri, da dover invocare l'azione fagocitaria dei leucociti o dei prolungamenti protoplasmatici di cellule così altamente differenziate come le cellule epiteliali che rivestono la mucosa intestinale.

Se questi nuovi concetti fossero pienamente confermati, l'assorbimento dei grassi non differirebbe da quello degli zuccheri e delle sostanze proteiche; si compirebbe, cioè, per il tramite di sostanze più semplici di quelle ingerite, disciolte, e per opera di attività fisiologiche particolari, ben distinte sempre dalle ordinarie proprietà osmotiche, di cellule epiteliali viventi.

Il grasso può esser fatto penetrare nell'organismo animale ancora per un'altra via, vale a dire per iniezioni sottocutanee. LEUBE fu il primo a constatare che il grasso, così introdotto nell'organismo, vi si può non solamente immagazzinare, ma è anche benissimo utilizzato nel ricambio materiale. Recentemente è stato dimostrato (REALE, GIURANNA e LUCIBELLI) che dei grassi introdotti per via sottocutanea non viene eliminata alcuna parte per l'orina (che normalmente contiene in media gr. 0,44 di grassi *pro die*); o solo una minima quantità, quando la dose iniettata fu considerevole, e che questi grassi riescono a mantenere l'equilibrio dell'N, come quelli introdotti per il tubo digerente.

§ 31. Abbiamo detto che, qualunque sia la forma in cui i grassi vengano ingeriti, e qualunque sia il meccanismo e la forma in cui siano assorbiti, essi si ritrovano sempre allo stato di grassi neutri al di là della mucosa intestinale, nelle vie linfatiche e poi nel sangue, che per alcune ore dopo un'alimentazione molto grassa si presenta un po' lattescente, ad eccezione di una piccola parte di grassi esistenti nella linfa e nel sangue allo stato di saponi solubili e di acidi grassi (?).

In forma di grassi neutri essi si depositano anche nei tessuti, molto rapidamente nelle cellule epatiche, e propriamente negli strati più periferici del loro corpo, più lentamente nel tessuto connettivo

sottocùtaneo o viscerale, nel midollo delle ossa, ecc. La parte di grasso che si deposita nei tessuti è quel che resta del grasso assorbito, sottratto quello che nell'organismo subisce una scomposizione ossidativa, per servire alla termogenesi animale, quasi immediata, o almeno avente luogo nel giro delle 24 ore.

Secondo GAUTIER, i grassi assorbiti, nell'attraversare le vie e i gangli linfatici, subiscono delle profonde modificazioni, che possono persino avere come conseguenza un cambiamento della loro natura. Se si nutrisce un erbivoro con i gliceridi dell'acido ricinoleico, si ritroverà — dice l'Autore — nel chilo quasi esclusivamente il grasso proprio all'animale, vale a dire gli ordinari gliceridi dell'acido stearico, palmitico e oleico. Questa trasformazione sarebbe operata dai leucociti. In ogni modo, egli aggiunge, è certo che nel corso di tale trasformazione, almeno una parte dei corpi grassi è passata transitoriamente per una forma assai complessa, poichè sono stati trovati nel chilo dei grassi azotati, fra gli altri un **amido-distearina**: $C^3 H^5 . (NH^2) . (C^{18} H^{35} O^2)^2$, ciò che indica che i nuovi corpi grassi hanno fatto parte, prima di trasformarsi in grassi normali, di molecole azotate complesse.

Ma ciò non costituisce la regola, poichè, come vedremo subito, si può alimentare un animale con grassi neutri o acidi grassi normalmente estranei alla sua costituzione e ritrovarli poi nel suo pannicolo adiposo.

Il grasso misto sottocutaneo dei diversi animali ha un differente punto di fusione; così, p. es.:

il grasso dell'uomo	fonde	a	15°-22° C.
il grasso (dell'uomo) che circonda i reni.	»	»	25° »
il grasso del cane	»	»	22° »
il grasso dell'oca	»	»	25° »
il grasso del bue	»	»	40° »
il grasso della pecora	»	»	50° »
il grasso del maiale	»	»	34°-43° »
il grasso di cammello	»	»	49°-52° »

§ 32. Parecchie sono le questioni riguardanti l'assimilazione del grasso, che qui dobbiamo brevemente trattare; e cioè:

1. Esiste un immagazzinamento del grasso assorbito nell'organismo, o questo si decompone subito, e il grasso depositato nei tessuti ha altra origine (dagli idrati di carbonio, dalle sostanze proteiche)?

2. Qual'è il meccanismo per cui il grasso si deposita entro gli elementi morfologici dei tessuti animali?

3. Quante e quali sono le origini del grasso animale?

4. Quali fattori regolano l'immagazzinamento del grasso?

Sembra oramai certo che una parte (FR. HOFFMANN) del grasso assorbito sia direttamente immagazzinato, costituendo nei tessuti un deposito di energia potenziale, cui l'organismo attingerebbe nei periodi di carestia. MUNK digrassò un cane col digiuno protratto, poi lo nutrì per alcuni giorni con molto grasso neutro o con acidi grassi liberi, e quando lo uccise trovò depositi considerevoli di **grasso neutro** nel suo corpo, che non poteva derivare che dal grasso ingerito. Se ad un cane si dànno da mangiare dei grassi estranei, dopo si ritrovano in forma di grassi neutri nel suo organismo: così si potè immagazzinare nel corpo d'un cane una quantità considerevole di olio di colza (punto di fusione = 23° C.) (RADZIEJEWSKY) e di sego di cammello (MUNK). A resultati analoghi giunsero, con diverse esperienze, altri osservatori. Ma il primo che pensasse a nutrire animali con grassi estranei fu KUEHNE, nel cui laboratorio RADZIEJEWSKY fece le sue esperienze con l'olio di colza, dimostrando la presenza dell'erucina nell'animale. Poi A. LEBEDEFF nutrì un cane con carne e olio di lino, e trovò nel grasso del fegato 23 % di acidi grassi solidi, mentre la rimanente parte — 67 % — era fatta di $^1/_5$ di acido oleico e di $^4/_5$ di **acido linooleico.**

Ciò non esclude però che il grasso depositato nei tessuti possa avere altra origine.

Nessun fisiologo sembra essersi preoccupato del come avviene il deposito del grasso negli elementi morfologici. A questo riguardo, mancando delle ricerche, noi non possiamo che esprimere delle ipotesi più o meno probabili.

Innanzi tutto non bisogna dimenticare la profonda differenza che TOLDT stabilì fra il vero sistema del tessuto adiposo e le cellule ripiene di grasso che si possono trovare da per tutto. Il primo è costante, appare in forma rudimentale negli embrioni, possiede un proprio apparato circolatorio, nervi e linfatici, e trovasi in località ben determinate. Da questo vero **tessuto adiposo** il TOLDT distingue il grasso che può depositarsi in punti indeterminabili, in quantità maggiore o minore a seconda dello stato di nutrizione dell'individuo, entro cellule prima connettivali, e che tornano tali quando il grasso sia scomparso dal loro interno; a differenza degli elementi del **tessuto adiposo,** che rimangono ordinati a forma di grappoli appesi ai tronchi vasali, anche quando contengono poco o punto grasso, e che si riconoscono sempre come elementi morfologici speciali.

La descrizione che dà il TOLDT del vero **tessuto adiposo** fa pensare ad una funzione speciale di esso nella fabbricazione dei depositi adiposi.

Se nessun istologo ha potuto osservare l'ingresso delle goccioline adipose dal contenuto intestinale nelle cellule di quell'epitelio, tanto meno può dirsi qualche cosa di preciso riguardo all'ingresso delle

goccioline di grasso circolanti nel plasma sanguigno dentro gli elementi del tessuto adiposo o dentro le cellule epatiche, ecc.; e se ora vi sono ragioni per mettere in dubbio un assorbimento di goccioline di grassi neutri da parte dell'epitelio intestinale, non vediamo perchè sarebbe più facile ammettere che le cellule dei nostri tessuti siano capaci di incorporare quelle circolanti nel sangue.

Come si vede, è un argomento che merita di essere studiato; ma non ci maraviglieremmo che si giungesse a dover ammettere che il grasso neutro circolante prima di penetrare nelle cellule adipose dovesse essere dal loro protoplasma prima trasformato e poi ricomposto.

Ammessa questa ipotesi non si vedrebbe però la necessità che gli acidi grassi e la glicerina dovessero ricomporsi in grassi neutri una prima volta nella mucosa intestinale e una seconda volta nelle cellule adipose; mentre, p. es., il glicosio non si polimerizza in glicogene che una volta sola, nel fegato o nei muscoli, e i peptoni subiscono solo una prima fase di polimerizzazione in sieralbumina nella parete intestinale, per prepararsi ad altre sintesi superiori negli elementi morfologici dei tessuti. Si potrebbe però ammettere che la necessità di tale duplice scomposizione e ricomposizione dei grassi neutri avesse la sua ragione nella grande tossicità dei saponi (Munk) e nel fatto che gli acidi grassi assorbiti o non sarebbero più solubili o formerebbero sempre saponi con gli alcali del plasma sanguigno. L'analogia che esiste a questo proposito. relativamente alla loro tossicità e alle trasformazioni chimiche cui vanno soggetti, fra i saponi e i peptoni è per sè stessa evidente.

Non ammettendo quell'ipotesi, bisogna dimostrare il passaggio delle goccioline adipose circolanti nel protoplasma cellulare (dimostrazione che non è riescita per le cellule dell'epitelio intestinale), o ammettere che il grasso depositato non deriva dal grasso assorbito, che sarebbe destinato tutto a decomporsi subito, ma dalla scissione delle sostanze proteiche e, per trasformazione, dagli idrati di carbonio.

Del resto, l'ipotesi accennata non esclude le altre due più generalmente ammesse, quelle, cioè, che le cellule adipose assumano meccanicamente i granuli di grasso a guisa delle amebe, e che fabbrichino il grasso da materiali differenti proteici o carboidrati. Tuttavia, che le cellule adipose possano fare la sintesi dei grassi neutri dagli acidi grassi o saponi e dalla glicerina, come si ammette esser vero per le cellule dell'epitelio intestinale, non si può mettere in dubbio, perchè le piccole quantità di saponi che si trovano nel chilo durante la digestione, in seguito diminuiscono di molto. evidentemente perchè essi sono stati trasformati in grasso neutro.

Considerando poi che anche negli individui magri nelle località

indicate dal TOLDT si trovano sempre quantità più o meno grandi di tessuto adiposo, si potrebbe pensare che nelle cellule del **vero tessuto adiposo** avesse luogo la fabbricazione di grasso da materiali differenti; mentre il **deposito** del grasso introdotto in eccesso avverrebbe forse negli elementi dei vari tessuti e particolarmente del tessuto connettivale.

Molti fisiologi hanno ammesso (BOUSSINGAULT) e oggi ammettono che il grasso possa derivare dalle sostanze proteiche e dagli idrati di carbonio, per una speciale attività metabolica delle cellule dei più diversi tessuti.

I fatti sui quali è basata quest'affermazione, relativamente all'origine del grasso dalle sostanze proteiche, sono:

1. La formazione dell'**adipocera**, una massa formata di acidi grassi e saponi di ammoniaca e di calce, dalle parti più ricche di sostanze proteiche di un cadavere. Ma, oltre a tante ragioni, infirma questa prova il fatto che nel processo di formazione dell'adipocera intervengono senza dubbio i microrganismi (KRATTER, K. B. LEHMANN, SALKOWSKI, PFLUEGER); e NAEGELI ha dimostrato che questi possono fabbricare albumine, grassi, idrati di carbonio sinteticamente da sostanze molto semplici.

2. SSUBOTIN e KEMMERICH, nel laboratorio di PFLUEGER, trovarono che una cagna produceva latte in abbondanza, quando era nutrita con carne assolutamente priva di grasso, e tanto più latte ricco di grasso, quanto più carne ingeriva. Ciò non ostante, PFLUEGER non vede in ciò « una prova della formazione di grasso del latte dall'albumina », e crede ad uno spostamento del grasso depositato nel corpo dell'animale verso la glandola mammaria.

3. La degenerazione grassa dei tessuti fu sempre considerata come una solida prova dell'origine proteica del grasso. Ma PFLUEGER osserva che, a parte il fatto che noi qui ci troviamo nel campo della patologia, il grasso in simili casi può anche esservi stato trasportato o derivare da idrati di carbonio, di cui l'organismo non ha mai difetto.

Non neghiamo che le obbiezioni di PFLUEGER alla 2.ª e 3.ª prova non ci sembrano di grandissimo valore.

Relativamente alla formazione di grasso in un organismo avvelenato con P, PFLUEGER osserva che tale fenomeno fu molto esagerato (J. BAUER), come dimostrarono le ricerche di LEO, che trovò solo un aumento di gr. 0,137 dell'estratto etereo su 100 gr. di rana, in seguito alla somministrazione del P. Considerando che l'estratto etereo non contiene solamente grasso, e che i nostri metodi dell'estrazione e determinazione del grasso sono insufficienti, PLUEGER non crede che si abbia diritto di ammettere che negli avvelenamenti con P, si formi il grasso a spese delle sostanze proteiche.

4. Fr. Hofmann fece il seguente esperimento.

Del sangue defibrinato fu pesato e poi coagulato:

gr. 100 di sangue dettero 19,05 % di sostanze solide e gr. 0,032 % di grasso,

gr. 100 di uova di mosca fresche dettero gr. 4,9 % di grasso.

Poi delle uova di mosca furono messe in determinate quantità di sangue. Ecco i resultati ottenuti da Hofmann:

Sangue dato come nutrimento	Suo contenuto in grasso	Uova fresche di mosche	Loro contenuto in grasso	Grasso contenuto nel nutrimento e negli animali	Grasso ottenuto dagli animali adulti
gr. 52,0	gr. 0,0166	gr. 0,0205	gr. 0,0010	gr. 0,0176	gr. 0,2012
» 55,7	» 0,0188	» 0,0600	» 0,0029	» 0,0217	» 0,1856
» 56,5	» 0,0181	» 0,0520	» 0,0025	» 0,0206	» 0,1460

In media, Hofmann trovò che le uova di mosche, sviluppandosi nel sangue povero di grasso, avevano fabbricato (evidentemente da sostanze proteiche) gr. 0,4729 di grasso. Ma Pflueger osserva, con ragione, che solo in principio fu determinato il grasso contenuto nel sangue che si offriva come nutrimento alle uova di mosche, quando non era ancora putrefatto; dopo, no. Ora è possibile che i microrganismi, non le uova, abbiano fabbricato il grasso; e a ciò si aggiunga il contenuto dei batteri in idrati di carbonio, che potrebbero anche essere trasformati in grasso.

5. Pettenkofer e Voit nutrirono dei cani con carne, secondo loro esente di grasso, e trovarono negli escreti tutto l'N introdotto, ma non tutto il C; nello stesso tempo aumentava il deposito di grasso degli animali. Essi spiegarono questo fatto, ammettendo che l'albumina nell'organismo si scinde in una parte contenente l'N e in un'altra priva di N, che servirebbe alla formazione del grasso. Ma Pflueger, sottomettendo ad una critica minuziosa le ricerche e i resultati di quegli Autori, è venuto alla seguente conclusione: « Queste famose ricerche di Voit e Pettenkofer non provano nulla in favore della formazione di grasso dall'albumina. Poichè i calcoli del bilancio utilizzati da loro sono essenzialmente il resultato di false opinioni sulla composizione elementare della carne magra, che Voit non adoperò in seguito ad analisi, ma a suo piacere, opinioni che sono in contraddizione con analisi di altri osservatori generalmente riconosciute come attendibili, e anche in contraddizione coi resultati delle analisi degli stessi Pettenkofer e Voit. **Su tale base sono fondate le odierne cognizioni sul bilancio materiale accettate dal maggior numero dei fisiologi** ».

Infatti il rapporto fra N e C nella carne magra da VOIT fu ammesso come eguale a 1 : 3,68, mentre secondo PFLUEGER è come 1 : 3,22, sottratto il glicogene, e secondo RUBNER come 1 : 3,28, senza sottrazione del glicogene. Calcolando con questi numeri i resultati di VOIT, PFLUEGER viene alla conclusione che non si ha alcun diritto di ammettere una formazione di grasso dai proteici.

Ma E. VOIT ha fatto nuove ricerche, nelle quali crede di aver trovato che facendo ingerire agli animali un'eccessiva quantità di carne, una parte del C introdotto rimane in una combinazione priva di N (probabilmente grasso), nell'organismo.

6. Per NAEGELI e LOEW non v'ha che una sola sorgente del grasso: le sostanze proteiche. I microrganismi nutriti con composti azotati inorganici e zucchero fabbricano da queste sostanze prima corpi proteici (peptoni) e poi da questi il grasso; mentre lo zucchero non serve ad altro che a fornire il materiale per la ricostruzione della sostanza proteica. Infatti, quasi del tutto indifferente è la composizione del liquido di cultura, per quanto riguarda la formazione del grasso. Contenga esso corpi azotati inorganici, o albumina o peptone e zuccheri, la fabbricazione del grasso è sempre possibile. Ciò dimostra, secondo quegli autori, che una sola è la sostanza dalla quale deriva il grasso, quella cioè la cui sintesi è anche sempre possibile nei microrganismi: la sostanza proteica.

Ammessa, però, anche come possibile una formazione di grasso dai proteici, non si saprebbe indicarne il meccanismo. Si può solamente pensare che il grasso venga formato per sintesi dai prodotti di disintegrazione della molecola proteica, fra i quali, secondo le ricerche di DRECHSEL, non esistono radicali contenenti un numero di atomi di C maggiore di 6 o 9. Non si deve, dunque, credere che il grasso sia una diretta derivazione da uno dei gruppi atomici della molecola proteica; ma che, in date condizioni, nel protoplasma cellulare hanno luogo contemporaneamente processi disintegrativi e integrativi, per i quali si forma del grasso. Infatti anche nella putrefazione delle sostanze proteiche si formano acidi grassi delle serie più basse (acido butirrico, valerianico, capronico), ma non gli acidi grassi più alti.

§ 32. Più generalmente ammessa ora è invece la formazione del grasso dagl'idrati di carbonio, probabilmente per un processo di sintesi accompagnata da riduzione, giacchè i gruppi CH OH degl'idrati di carbonio debbono essere, non solamente legati insieme, ma ridotti in CH^2. Ogni quantità d'idrati di carbonio eccedente i bisogni attuali dell'organismo — dice PFLUEGER — è trasformata in grasso, e questo depositato nel corpo. VOIT non potè giungere a riconoscere questa verità, perchè egli credette di aver provato con le sue ricerche che ogni quantità anche massima d'idrati di carbonio fosse

distrutta immediatamente nell'animale. PFLUEGER invece afferma che i grassi dell'organismo derivano sempre dagli alimenti privi di N, e che un maggior deposito di grasso negli animali nutriti con proteine e idrati di carbonio avviene « non perchè l'albumina stessa si trasforma in grasso, ma perchè essa risparmia gl'idrati di carbonio che generano il grasso ».

Una delle prove migliori dell'origine del grasso dagl'idrati di carbonio la dànno, del resto, gli erbivori, che introducono proteine e scarsissime quantità di grasso insieme con una quantità straordinariamente grande d'idrati di carbonio; o gli esperimenti in cui oltre alla quantità di sostanze proteiche necessaria a mantenere l'equilibrio dell'N si dà all'animale un eccesso d'idrati di carbonio. In questi casi il grasso accumulatosi nell'organismo non può derivare esclusivamente dal resto privo di N della molecola proteica disintegrata, ma evidentemente dagl'idrati di carbonio.

Secondo GAUTIER, la maggior parte degl'idrati di carbonio forniti dall'alimentazione o formati nelle cellule (dalla disintegrazione delle sostanze proteiche) subisce, durante il riposo, **una vera fermentazione,** che ha per effetto di trasformarli in grasso. Se — dice l'Autore — s'introduce una gran quantità di sole sostanze amilacee, si osserva un'esalazione per i polmoni di un'enorme quantità di CO^2, cui non corrisponde un aumento proporzionale dell'O assorbito nel medesimo tempo. Egli è che negli elementi morfologici del tessuto adiposo si verifica, in simili condizioni, il processo di fermentazione supposto dal GAUTIER, per cui gl'idrati di carbonio si trasformano in grassi e CO^2, secondo la seguente equazione:

$$\underbrace{13\,C^6\,H^{12}\,O^6}_{\text{(zucchero)}} = \underbrace{C^{55}\,H^{104}\,O^6}_{\left(\text{oleo-stearo-palmitina}\right)} + 23\,CO^2 + 26\,H^2\,O.$$

Il fatto, indicato molto tempo prima dal GAUTIER, fu poi nettamente stabilito dalle esperienze di HANRIOT e RICHET.

§ 33. Relativamente alla **lecitina,** abbiamo già detto che una parte di quella introdotta è eliminata per le feci, un'altra parte è scissa e i suoi prodotti di scissione sono assorbiti, e una terza parte finalmente è assorbita senza aver subìto alcuna modificazione.

Ma certamente questo non può rappresentare tutto il metabolismo della lecitina. Lecitina deve formarsi per sintesi in ogni cellula vivente per l'attività del protoplasma. TICHOMIROFF constatò nelle uova degli insetti la formazione di lecitina, durante il loro sviluppo. Nei mammiferi adulti il luogo della sua più abbondante formazione pare che sia il fegato, a giudicare almeno dal fatto che nel sangue della vena porta si trovano gr. 0,87 $^0/_{00}$, mentre nel sangue delle vene sopraepatiche si trovano gr. 3,45 $^0/_{00}$ di lecitina.

MAXWELL constatò la formazione di lecitina durante la germinazione dei semi. Egli trovò che i semi maturi di *Phaseolus vulgaris* contengono gr. 0,933 % di lecitina, mentre allo stadio di *Plumula* ne contengono gr. 3,230 %. Lo stesso Autore ha anche osservato che durante lo sviluppo dell'embrione di pollo la lecitina del tuorlo viene consumata, il suo P essendo utilizzato alla formazione delle ossa.

DANILEWSKY, finalmente, ha visto che la presenza di una piccolissima quantità di lecitina (quanta se ne può sciogliere nell'acqua) è molto favorevole al rigoglioso sviluppo delle uova di anfibi.

La conoscenza del metabolismo della lecitina è molto importante, perchè si riconnette da una parte a quella del metabolismo del P, in generale, e dall'altra a quella del metabolismo dei grassi. Dopo le nucleine, infatti, sono le lecitine quelle che contengono la maggior quantità di P legata in combinazione organica.

Ora, per avere un'idea dell'importanza biologica dell'acido fosforico, basta rammentare le parole di LIEBIG, il quale scrisse che « noi non possiamo pensare la formazione di sostanze azotate senza la presenza e la cooperazione dell'acido fosforico ». Nello sviluppo delle piante, infatti, il P segue sempre le sostanze proteiche, e si trova nelle ceneri in maggior quantità, là dove l'accrescimento e la moltiplicazione cellulare, rispettivamente la neoformazione di masse nucleari, è più attiva. Nei semi, oltre alla presenza di fosfati liberi, si trovano combinazioni chimiche di fosfati mono- e dimetallici con sostanze proteiche, combinazioni più o meno stabili, la cui esistenza è dimostrata dal fatto che la presenza di fosfato disodico impedisce la precipitazione delle proteine dalle loro soluzioni mediante l'aggiunta di un acido (LOEW). Lo stesso si può ripetere per gli animali. Quando un animale accresce la sua muscolatura vengono sempre immagazzinati contemporaneamente dei fosfati, che poi sono emessi, insieme con l'N delle sostanze proteiche che si disintegrano, per l'orina durante il digiuno. Noi possiamo dunque riassumere l'ufficio biologico dell'acido fosforico, dicendo con il LOEW, che in primo luogo esso favorisce la formazione della **nucleina attiva** del nucleo cellulare, quella cioè che con i suoi energici moti atomici opera le riduzioni, le disintegrazioni e le condensazioni, che poi conducono alla formazione della molecola della **proteina attiva.** L'ufficio dell'acido fosforico sarebbe, dunque, un ufficio indiretto.

Per quanto riguarda più specialmente la lecitina, in cui il P si trova legato nella molecola dell'acido fosfoglicerico, il LOEW crede che la sua importanza consista nel **rendere possibile la combustione fisiologica dei grassi,** o almeno nell'agevolarla. I grassi non brucerebbero se non incorporandosi nella molecola della lecitina. Egli imagina che come una molecola di acido grasso è ossidata, un'altra, derivante dalla scomposizione del grasso neutro immagazzinato, va a sostituirla

nella molecola della lecitina, dove è a sua volta ossidata; e così via. La molecola della lecitina sarebbe dunque, secondo LOEW, una specie di macchina, in cui gli acidi grassi vengono somministrati al protoplasma vivente in uno stato di maggior combustibilità.

Un fatto molto interessante, comunque sia, è certo, ed è che là dove sono più attivi i processi d'ossidazione la lecitina si trova sempre in maggior quantità. Le uova e gli embrioni sono sempre ricchi di lecitina; e ciò non deve parere una contraddizione, perchè non sempre ossidazione è sinonimo di disintegrazione, anzi talora la fissazione di O è indispensabile perchè abbiano luogo alcune tra le più alte sintesi organiche (PFLUEGER).

Ora la presenza dell'acido fosforico nella molecola della lecitina molto probabilmente ha la sua parte in questa particolar funzione della lecitina.

Che finalmente la lecitina si consumi facilmente nell'organismo è dimostrato, oltre che dalle esperienze di MAXWELL sugli embrioni di pollo, anche da alcune ricerche di HEFFTER, secondo il quale nel digiuno diminuisce il contenuto in lecitina del fegato.

§ 34. Sull'origine e destinazione della colesterina non si sa quasi nulla di certo. Non si sa se la fabbrica l'organismo animale, o se questo la riceve già formata dalle piante. Essa si trova in gran quantità nei calcoli biliari. Ma dopo che è stato dimostrato (NAUNYN, THOMAS, JANKAN) che questa non deriva dalle cellule epatiche, ma dagli epiteli delle vie biliari profonde, specialmente della vescica biliare, si presenta anche qui la questione se essa sia formata da queste cellule, o se queste costituiscano semplicemente la via della sua eliminazione. Colesterina si trova anche in quantità considerevole nelle feci. Sì che tutto conduce a credere ch'essa sia un materiale escrementizio, la cui storia precedente ci rimane affatto sconosciuta.

Secondo LOEW, la colesterina, che è affatto insolubile in acqua, non partecipa al ricambio materiale. Essa può esser considerata come un prodotto accessorio che comparisce durante la formazione dei grassi dagl'idrati di carbonio. Ma poichè i grassi possono anche derivare da sostanze proteiche, anche l'opinione di altri autori, i quali ammettono le colesterine essere prodotti del metabolismo delle sostanze proteiche, può essere ammessa.

Molti, però, credono ancora oggi che la colesterina si formi nel fegato, basandosi principalmente sulle analisi di DROSDORFF, il quale trovò che il sangue delle vene sopraepatiche è più ricco in colesterina di quello della vena porta. Egli infatti trovò per 1000 gr. di sangue:

	Sangue delle vene sopraepatiche	Sangue della vena porta	Sangue dell'arteria epatica
Sostanze solide . . .	220,0	223,0	—
Colesterina.	3,32	1,50	1,60

Queste cifre fanno anche pensare che un assorbimento di colesterina dall'intestino, come dicemmo, non esiste. Nell'intestino infatti la colesterina è ridotta, più o meno a seconda degli animali, in **coprosterina** (uomo, cane) o in **ippocoprosterina** (cavallo) e in questa forma principalmente eliminata nelle feci.

4. — *PRODOTTI CATABOLICI DEI GRASSI E SOSTANZE LORO AFFINI.*

§ 35. Le questioni riguardanti il catabolismo dei corpi grassi possono riassumersi nel seguente modo:

1.° Quali sono i prodotti intermedi e terminali della scissione dei grassi neutri?

2.° Qual'è il meccanismo intimo di detta scissione?

3.° Dove avviene la scomposizione dei grassi e quali mutamenti debbono essi subire prima di scomporsi nei loro prodotti terminali?

Dei prodotti di scomposizione dei grassi neutri noi non conosciamo che quelli terminali, che, come per gl'idrati di carbonio, si riassumono nell'H^2O e nel CO^2. Nulla sappiamo dell'eventuale comparsa di prodotti intermedi. Solo sotto l'influenza dei microrganismi vediamo comparire acidi grassi contenenti un minor numero di atomi di C, e possiamo sospettare che un simile fenomeno si verifichi anche per opera delle cellule viventi.

Inoltre si suppone che gli acidi succinico, mesossalico e ossalico, come gli acidi omologhi all'acido stearico (palmitico, caproico, valerico, butirico, ecc.), sempre più poveri in atomi di C, si producano nel corso dell'ossidazione graduale degli acidi grassi.

Si ammette inoltre una trasformazione del grasso in idrati di C, che equivarrebbero ad una semplificazione della molecola grassosa.

Relativamente al luogo dove avviene l'incipiente scomposizione, o meglio la trasformazione, dei grassi, O. Nasse crede che il fegato sia la sede principale di essa; e nel fegato avverrebbe la disintegrazione non solamente del grasso primieramente ivi depositato, ma anche di quello che, proveniente da altri depositi, è destinato ad essere disintegrato per fornire all'organismo le energie di cui ha bisogno. Avrebbe luogo, dunque, un trasporto di grasso, dal tessuto adiposo nel fegato, dove sarebbe trasformato; i prodotti di questa trasformazione sarebbero poi trasportati ai muscoli, o ad altri organi, per esservi utilizzati.

Del resto, tutti i tessuti hanno il potere di scindere i grassi neutri, come anche altri eteri, specialmente in un ambiente alcalino. Il pancreas, il fegato e i reni posseggono il maggior potere lipolitico, che è minimo nei muscoli.

Ma quali possono essere i prodotti di scomposizione dei grassi? Probabilmente degl'idrati di carbonio.

Sembra infatti che la molecola del grasso neutro per sè stessa non sia utilizzabile, ma rappresenti invece la forma migliore in cui l'energia può essere immagazzinata. Poco probabile è che i grassi siano utilizzati allo stato di saponi. Se ciò fosse, bisognerebbe ammettere che i saponi si formassero solo a misura ch'essi fossero utilizzati, data la loro grande tossicità, quale risulta dal fatto che gr. 0,14 di acido oleico in forma di sapone di soda arresta il cuore di un coniglio in 40-50 minuti (MUNK). Certo, è più probabile che gl'idrati di carbonio, in parte per la relativa semplicità della loro struttura, in parte per la grande loro solubilità e facile trasportabilità da un luogo all'altro, costituiscano quella forma di materiale che è più adatta ad entrare nei complessi molecolari più elevati della materia vivente proteica, che sola, secondo PFLUEGER, sarebbe direttamente capace di fornire l'energia viva. La trasformazione del grasso in idrati di carbonio, la sua scissione in molecole più semplici, sarebbe necessariamente accompagnata da un'incipiente ossidazione, poichè i gruppi CH^2 dovrebbero convertirsi nei gruppi CH OH.

L'ipotesi di LOEW, dianzi esposta, potrebbe essere messa in accordo con queste vedute, ammettendo che sia appunto questa incipiente ossidazione quella che avrebbe luogo nella molecola dell'acido grasso, mentre è ancora incorporata nella molecola della lecitina.

FOSTER però non sarebbe alieno dall'ammettere una trasformazione dei grassi in idrati di carbonio al momento stesso in cui essi abbandonano le cellule adipose. Secondo quest'Autore, il rivestimento protoplasmatico che inviluppa il grasso è probabilmente di natura speciale, e potrebbe forse aiutare la fuoriuscita del grasso, e forse, aggiungiamo, operare anche la sua trasformazione.

La scomparsa del grasso ha luogo in diversi modi. Più ordinariamente esso scomparisce a poco a poco, e la cellula gradatamente riacquista i caratteri di una comune cellula connettivale rotonda o ramificata. Ma altre volte, specialmente quando la scomparsa è rapida e totale, lo spazio prima occupato dal grasso si riempie di un liquido chiaro somigliante a linfa, che poi scomparisce a sua volta, mentre il corpo della cellula si retrae. Ovvero la retrazione della cellula va di pari passo con la scomparsa del grasso, ma questo si lascia in dietro una sostanza d'aspetto mucoso. In ogni caso, alla scomparsa del grasso segue un ringiovinimento dell'elemento cellulare, dimostrato dalla possibile comparsa di processi cariocinetici nel suo nucleo: e le cellule neoformate possono in seguito, trovandosi nelle dovute condizioni di nutrizione, trasformarsi di nuovo in cellule adipose. Secondo TOLDT, il pigmento del grasso rimane in dietro nella cellula adiposa retratta, per ridisciogliersi nuovamente nel grasso che

essa fabbricherà poi. Sembra per ciò che questo lipocromo sia un prodotto dell'attività del protoplasma, in cui rimane quando il grasso scompare dalle cellule adipose. Così si spiega che il tessuto adiposo privo di grasso apparisce più oscuro e rossastro per l'evidenza maggiore che acquistano i suoi vasi sanguigni; mentre quando è zeppo di adipe ha un color bianco-giallastro, e presenta tutte le sfumature dal bianco-giallastro al giallo-rossastro, corrispondentemente al contenuto maggiore o minore di grasso che diluisce più o meno il pigmento fabbricato dal protoplasma cellulare.

Poco o nulla si sa dei processi chimici che accompagnano la scomparsa del grasso dai tessuti. Secondo GAUTIER, i grassi prima di sparire subirebbero assai probabilmente una vera saponificazione, grazie a un enzima analogo a quello contenuto nel succo pancreatico, che li trasformerebbe in glicerina e acidi grassi, che poi si combinerebbero con gli alcali del sangue.

In ogni modo, si può supporre, in via generale, che i prodotti di scomposizione dei grassi subiscano la definitiva ossidazione in H^2O e CO^2 principalmente nei muscoli, o un'ulteriore trasformazione e incorporazione in composti superiori in ogni cellula vivente dell'organismo.

Una parte di grasso viene anche eliminata dal corpo, come tale, per la via delle glandole sebacee. KRUKENBERG determinò la quantità di grasso così eliminato mediante pezzi di carta priva di gomma applicati sullo sterno, nei quali poi osservava il grado d'imbibizione adiposa col processo fotometrico di BUNSEN. Egli così trovò che durante le marcie forzate eseguite nei giorni caldi si elimina 20 volte più grasso per la pelle, che nei giorni freddi e nel riposo. Egli calcolò che tale eliminazione per un uomo, durante una marcia, può ammontare, in media, a gr. 40,8.

IV. — Bibliografia dei grassi e sostanze affini.

(318) 1858. MUELLER W. *Ueber die chemische Bestandtheile des Gehirns.* Ann. Chem. u. Pharm., Bd. CV, pag. 361.
(319) 1862. BENEKE. *Dimorphie und Löslichkeitsverhältnisse des Cholesterins.* Ann. Chem. u. Pharm., Bd. CXXVII, pagine 105-107.
(320) 1865. LIEBREICH O. *Ueber die chemische Beschaffenheit der Gehirnsubstanz.* Ann. Chem. u. Pharm., Bd. CXXXIV, pag. 29-44. Centralbl. med. Wissensch., pag. 305-307.
(321) 1868. DIACONOW C. *Ueber die chemische Constitution des Lecithins.* I^e Mitth. Centralbl. med. Wiss., p. 2-3.
(322) 1868. Idem. *Das Lecithin im Gehirn.* Centralbl. med. Wissenschaft, pag. 97-99.

(323) 1868. Koehler H. *Chemische Untersuchungen über die, fälschlich Hirnfette genannten Substanzen und ihre Zersetzungsproducte.* Halle, Pfeffer.
(324) 1868. Diaconow C. *Ueber die chemische Constitution des Lecithins.* Centr. f. med. Wiss., pag. 434-435.
(325) 1870. Bruecke E. (*Emulsione del grasso*). Sitz. ber. d. Wien. Akad., II Abth., Bd. LXI, p. 362.
(326) 1871. Wimmel Th. *Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes der Fette.* Poggend. Annal., pag. 142 e 471.
(327) 1871. Ruedorf Fr. *Bestimmung der Schmelz- und Erstarrungstemperatur der Fette, ecc.* Pogg. Annal., p. 140.
(328) 1872. Hofmann Fr. *Der Uebergang von Nahrungsfett in die Zellen des Thierkörpers.* Zeitschr. f. Biol., Bd. VIII, p. 153-181.
(329) 1874. Hofmann Fr. *Ueber die Reaction der Fette und die quantitative Bestimmung von Fettsäuren in Fetten.* Beiträge z. Anat. u. Physiol. C. Ludwig gewidmet. Leipzig, Vogel.
(330) 1874. Weiske H. e Wildt E. *Untersuchungen über Fettbildung im Thierkörper, ecc.* Zeitschr. f. Biol., Bd. X, p. 1.
(331) 1874. Thanhoffer L. v. *Beiträge zur Fettresorption und histologischen Struktur der Dünndarmzotten.* Pflüger's Arch., Bd. VIII, p. 391.
(332) 1876. Forster J. *Ueber den Ort des Fettansatzes im Thiere bei verschiedene Fütterungsweise.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XII, pag. 448-463.
(333) 1876. Percwoznikoff A. *Zur Frage von der Synthese des Fettes.* Centr. med. Wiss., p. 851.
(334) 1877. Lawes e Gilbert. *The formation of fat in the animal body.* Journ. of. An. and Phys., vol. XI, p. 577.
(335) 1878. Gad J. *Zur Lehre von der Fettresorption.* Arch. f. Physiol., pagine 181-205.
(336) 1879. Hoppe Seyler F. *Ueber Lecithin in der Hefe.* Zeitschr. phys. Chem. Bd. III, p. 374-380.
(337) 1879. Gamgee A. e Blankenhorn E. *Ueber Protagon.* Zeitschr. phys. Chem., Bd. III, p. 332-338.
(338) 1880. Cash. *Ueber den Antheil des Magens und des Pankreas an der Verdauung des Fettes.* Arch. f. Phys., p. 323.
(339) 1880. Naegeli C. v. e Loew O. *Ueber die Fettbildung bei den niederen Pilzen.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXI, p. 97-114.
(340) 1880. Kellner O. *Untersuchungen über die Bildung von Fett aus Eiweiss beim Reifen des Käses.* Maly's Jahres-Bericht, Bd. X, pag. 43.
(341) 1880. Muntz A. *De l'influence de l'engraissement des animaux sur la constitution des graisses formées dans leurs tissus.* Compt. rend., tom. XC, p. 1175-1177.
(342) 1880. Becke v. d. *Beiträge zur Kenntniss der Verseifung der Fette.* Zeitschr. analyt. Chem., p. 291.
(343) 1881. Langer L. *Ueber die chemische Zusammensetzung des Menschenfettes in verschiedenen Lebensaltern.* Monatshefte f. Chem., Bd. II, p. 382-397.
(344) 1881. Soxhlet F. *Versuche über die Fettbildung im Thierkörper.* Maly's Jahresber., Bd. XI, pag. 51-54.
(345) 1881. Parcus E. *Ueber einige neue Gehirnstoffe.* In.-Diss., Leipzig.
(346) 1881. Reinke e Rodewald. *Ueber Paracholesterin aus Aethalium septicum.* Liebig's Ann., Bd. CCVII, p. 229-235.
(347) 1881. Henneberg. *Ueber Fleisch- und Fettproduction in verschiedenem Alter und bei verschied. Ernährung.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XVII, pag. 295.
(348) 1881. Ogata. *Zerlegung der Fette im lebendigen Magen.* Arch. f. Anat., pag. 515.
(349) 1882. Schulze B. *Ueber Fettbildung im Thierkörper.* Landw. Jahrb., 1, p. 57-95.

(350) 1882. SCHULTZE E. e BARBIERI J. *Ueber das Verhalten der Cholesterine bei der Keimung.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXV, pagine 159 e 458.
(351) 1882. KRAFFT. *Ueber neunzehn höhere Normalparaffine, ecc.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XV, p. 1687.
(352) 1882. HESSE O. *Ueber Phytosterin und Paracholesterin.* Liebig's Ann., Bd. CCXI, pag. 283-284.
(353) 1882. LEBEDEFF A. *Ueber die Ernährung mit Fett.* Zeitschr. phys. Chem. Bd. VI, pag. 139-154.
(354) 1883. Id. *Woraus bildet sich das Fett in Fällen der acuten Fettbildung?* Pflüger's Arch., Bd. XXXI, p. 11-59.
(355) 1883. MEISSL E. e STROHMER F. *Ueber die Bildung von Fett aus Kohlenhydraten im Thierkörper.* Sitzungsber. Wien. Akad., Bd. LXXXVIII, III Abth., Juli-Heft, p. 205.
(356) 1883. LEBEDEFF A. *Studien über Fettresorption.* Arch. f. Physiol., pagine 488-521.
(357) 1883. WILL. *Vorläufige Mittheilung über Fettresorption.* Pflüger's Arch., Bd. XX, p. 255.
(358) 1883. HUNDESHAGEN FR. *Zur Synthese des Lecithins.* Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXVIII, p. 219.
(359) 1883. TSCHERWINSKY N. *Zur Frage über die Fettbildung im thierischen Organismus.* Maly's Jahresber., Bd. XIII, p. 40-42.
(360) 1883. EWALD C. A. *Ueber Fettbildung durch die überlebende Darmschleimhaut.* Arch. f. Phys. Suppl.-Bd., p. 302-311.
(361) 1884. CHANIEWSKY ST. *Ueber Fettbildung aus Kohlenhydraten im Thierorganismus.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XX, p. 178-192.
(362) 1884. ZAWARYKIN TH. *Einige die Fettresorption im Dünndarm betreffende Bemerkungen.* Pflüger's Arch., Bd. XXXV, p. 145-157.
(363) 1884. PASCHKIS H. *Ueber das Vorkommen des Phytosterins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 356-358.
(364) 1884. EIMER TH. *Neue und alte Mittheilungen über Fettresorption im Dünndarm und Dickdarm.* Biol. Centralbl., Bd. IV, p. 580-600.
(365) 1884. MUNK J. *Zur Lehre von der Resorption, Bildung und Ablagerung der Fette.* Virchow's Arch., Bd. XCV, p. 452.
(366) 1885. Id. *Die Fettbildung aus Kohlenhydraten beim Hunde.* Virchow's Arch., Bd. CI, pag. 91-134.
(367) 1885. MUELLER FR. *Ueber Fettresorption.* Maly's Jahresber., Bd. XV, pag. 54-57.
(368) 1885. BAUMSTARK F. *Ueber eine neue Methode, das Gehirn chemisch zu untersuchen, und deren bisherige Ergebnisse* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 97-105.
(369) 1885. LANDWEHR H. A. *Zur Lehre von der Resorption des Fettes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 361-379.
(370) 1885. LEO H. *Fettbildung und Fetttransport bei Phosphorintoxication.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 469-490.
(371) 1885. MUNK J. *Zur Frage der Fettresorption.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 568-576.
(372) 1885. Id. *Neuere Untersuchungen über die Resorption, Bildung und Ablagerung des Fettes im Thierkörper.* Biol. Centralbl., Bd. V, pagine 308-320.
(373) 1885. VOIT C. *Ueber die Fettbildung im Thierkörper.* Sitzungsber. königl. bayr. Akad. d. Wiss., p. 288-297.
(374) 1885. LIEBERMANN C. *Ueber das Wachs und die Fette der Cochenille.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVIII, p. 1975.
(375) 1886. BENEDIKT R. *Analyse der Fette und Wachsarten.* Berlin, J. Springer.
(376) 1886. MINKOWSKI O. *Ueber die Synthese des Fettes aus Fettsäuren im Organismus des Menschen.* Arch. f. experim. Path. u. Pharm., Bd. XXI, p. 373-387.
(377) 1886. THUDICUM. *Grundzüge der anatomischen und klinischen Chemie.* Berlin.

(378) 1886. Nencki M. *Ueber die Spaltung der Säureester der Fettreihe, ecc. durch das Pankreas.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XX, pagine 367-384.
(379) 1886. Rubner M. *Ueber die Fettbildung aus Kohlenhydraten im Körper des Fleischfressers.* Zeitschr. Biol., Bd. XXII, p. 272-280.
(380) 1886. Heckel E. e Schlagdenhauffen Fr. *Sur la présence de la cholestérine dans quelques nouveaux corps gras d'origine végétale.* Compt. rend., vol. CII, pag. 1317-1319.
(381) 1886. Arnaud A. *Sur la présence de la cholestérine dans la carotte; recherches sur ce principe immédiat.* Compt. rend., vol. CII, pagine 1319-1322.
(382) 1886. Nasse O. *Fettzersetzung und Fettanhäufung im thierischen Körper.* Biol. Centr., Bd. VI, p. 235-243.
(383) 1886. Voit C. v. *Ueber die Fettbildung im Thierkörper* (Nach zwei von Dr. E. Voit und Dr. C. Lehmann und von Dr. M. Rubner ausgeführten Untersuchungen). Biol. Centr., Bd. VI, p. 243-249.
(384) 1886. Schulze E. *Ueber das Vorkommen von Cholin in Keimpflanzen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 365.
(385) 1887. Dastre. *Du rôle de la bile dans la digestion des matières grasses.* Compt. rend. soc. biol., p. 782.
(386) 1888. Pacht Th. *Untersuchungen über das Verhalten der Fette zu Zuckersolutionen.* In.-Diss., Dorpat.
(387) 1888. Liebreich O. (*Sulla funzione biologica della lanolina*). Compt. rend. tom. CVI, pag. 1176-1178.
(388) 1888. Munk J. *Ist Lanolin vom Darm resorbirbar?* Centr. med. Wiss., n.° 41.
(389) 1888. Klemperer G. e Scheurlen E. *Das Verhalten des Fettes im Magen.* Zeitschr. klin. Medic., Bd. XV, p. 370-379.
(390) 1888. Krukenberg C. Fr. W. *Beobachtungen über Ansatz und Ausscheidung der Fette.* Chemische Untersuch. zur Wissen. Med., IIes Heft-p. 244-252.
(391) 1888. Hasebroek K. *Ueber das Schicksal des Lecithins im Körper, und eine Beziehung desselben zum Sumpfgas im Darmcanal.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 148-162.
(392) 1888. Gilson E. *Beiträge zur Kenntniss des Lecithins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 585-602.
(393) 1889. Luedy E. *Ueber die Spaltung des Fettes in den Geweben und das Vorkommen von freien Fettsäuren in denselben.* Arch. f. exper. Path. u. Pharm., Bd. XXV, p. 347-362.
(394) 1889. Groeper E. *Ein Beitrag zur Lehre von der Fettresorption.* Arch. f. Physiol., p. 505-523.
(395) 1889. Munk J. *Ueber die Wirkungen der Fettsäuren und Seifen im Thierkörper.* Centr. Med. Wissensch., p. 514-516.
(396) 1889. Krafft F. e Noerdlinger H. *Ueber einige Siedepunkte in der Oxalsäure- und Oelsäurereihe.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXII. p. 816-820.
(397) 1889. Burchard H. *Beiträge zur Kenntniss der Cholestearine.* In.-Diss.. Rostock.
(398) 1889. Jacobson H. *Ueber einige Pflanzenfette.* Zeitschr. physiol. Chem.. Bd. XIII, p. 32-65.
(399) 1889. Schulze E. e Steiger E. *Ueber den Lecithingehalt der Pflanzensamen.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XIII, p. 365-384.
(400) 1889. Gruenhagen A. *Ueber Fettresorption im Darme.* Pflüger's Arch.. Bd. XLIV, pag. 535-544.
(401) 1890. Minkowski O. *Zur Lehre von der Fettresorption.* Berlin. klin. Woschenschr., N. 15, p. 333-336.
(402) 1890. Munk J. *Ueber die Resorption von Fetten und festen Fettsäuren nach Ausschluss der Galle vom Darmcanal.* Virchow's Arch.. Bd. CXXII, pag. 302-325.
(403) 1890. Id. *Weiteres zur Lehre von der Spaltung und Resorption der Fette.* Ibidem, pag. 581-582.

(404) 1890. Baas H. K. L. *Beiträge zur Spaltung der Säureester im Darme.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 416-436.
(405) 1890. Arnschink L. *Versuche über die Resorption verschiedener Fette aus dem Darmcanal.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXVI, p. 434-451.
(406) 1890. Munk J. e Rosenstein. *Ueber Darmresorption, nach Beobachtungen an einer Lymph-(Chylus)-Fistel beim Menschen.* Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin. Arch. f. Physiol., p. 376-380.
(407) 1890. Walther P. v. *Zur Lehre von der Fettresorption.* Arch. f. Phys., pag. 328-341.
(408) 1890. Gad J. e Heymans J. F. *Ueber das Myelin, die myelinhaltigen und myelinlosen Nervenfasern.* Arch. f. Physiol., p. 530.
(409) 1890. Kossel A. e Obermueller K. *Eine neue Methode zur Verseifung von Fettsäure-Aethern.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pagine 599-601.
(410) 1890. Dastre. *Réchercheshes sur la bile.* Arch. d. phys., p. 315.
(411) 1890. Schulze E. *Bilden sich Cholesterine in Keimpflanzen, welche bei Lichtabschluss sich entwickeln?* Zeitschr. phys. Chem., Bd. XIV, pag. 491-521.
(412) 1890. Id. *Ueber die Farbenreaction des Isocholesterins mit Essigsäure-Anhydrid und Schwefelsäure.* Ibid., p. 522-523.
(413) 1890. Liebreich O. *Ueber das Vorkommen des Lanolins im menschl. Organismus.* Virchow's Arch., Bd. CXXI, p. 383-395.
(414) 1890. Id., *Ueber das Lanolin und den Nachweis der Cholesterinfette beim Menschen.* Verhandl. physio'. Ges. zu Berlin. Archiv. f. Phys., p. 363-365.
(415) 1890. Abelmann. *Ueber die Ausnutzung der Nahrungsstoffe nach Pankreascxstirpation, ecc.* In.-Diss., Dorpat (Ampia bibliografia).
(416) 1890. Munk J. *Ueber die Wirkungen der Seifen im Thierkörper.* Arch. f. Phys. Suppl., p. 116-141.
(417) 1891. Kossel A. *Ueber einige Bestandtheile des Nervenmarks.* Arch. f. Phys., p. 359.
(418) 1891. Maxwell W. (*Metodi di determinazione dei grassi nelle piante*). Amer. chem. journ., vol. XIII, p. 13-16.
(419) 1891. Walther P. v. *Ueber die Synthese der Fettsäuren im thierischen Organismus.* Maly's Jahresber., Bd. XXI, p. 32-33.
(420) 1891. Zuntz N. *Einige Versuche zur diätetischen Verwendung des Fettes.* Ther. Monatsh., Bd. IV, p. 471-474.
(421) 1891. Liebreich O. *Ueber die Fette.* Festschrift R. Virchow gewidmet. Berlin. Reimer.
(422) 1891. Loew O. *Ueber die physiologischen Funktionen der Phosphorsäure.* Biol. Centralbl., Bd. XI, p. 269-281.
(423) 1891. Rachford. *The influence of bile an the fat splitting properties of pancreas juice.* Journ. of. phys., vol. XII, p. 72.
(424) 1891. Hultgren E. O. e Landergren E. *Ueber die Ausnutzung von Margarin, Butter, etc. im Darme des Menschen.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. II, p. 373-393.
(425) 1891. Maxwell W. *Ueber das Verhalten der Fettkörper und die Rolle der Lecithine während der Keimung.* Chem. Centralbl., I, p. 364.
(426) 1891. Id. *On the biolog. function of lecithin.* Amer. chem. journ., vol. XIII, pag. 428-429.
(427) 1891. Obermueller K. *Beiträge zur Kenntniss des Cholesterins.* Zeitschr. physiol. Chem , Bd. XV, p. 37-48.
(428) 1891. Kossel A. e Krueger M. *Ueber die Verseifung von Estern durch Natriumalkoholat.* Ibid., p. 321 330.
(429) 1891. Schulze E. e Likiernik A. *Ueber das Lecithin der Pflanzensamen.* Ibid., p. 405-414.
(430) 1891. Obermueller K. *Weitere Beiträge zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins.* Ibid.. Bd. XVI, p. 143-151.
(431) 1891. Id. *Zur Kenntniss der Verseifung mittelst Natriumalkoholat.* Ibid., p. 152-159.

(432) 1892. Pflueger E. *Die Ernährung mit Kohlenhydraten und Fleisch.* Pflüger's Arch., Bd. LII, p. 239.
(433) 1892. Kossel A. e Freytag Fr. *Ueber einige Bestandtheile des Nervenmarks und ihre Verbreitung in den Geweben des Thierkörpers.* Zeitschr. physiol. Chem., XVII, p. 431-456.
(434) 1892. Pflueger E. *Ueber Fleisch- und Fettmästung.* Pflüger's Arch., Bd. LII, pag. 45.
(435) 1892. Lewkowitsch J. *Zur quantitativen Bestimmung des Cholesterins.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXV, p. 65-66.
(436) 1892. Fick A. *Ueber die Bedeutung des Fettes in der Nahrung.* Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg, p. 111-116.
(437) 1892. Voit E. *Ueber die Fettbildung aus Eiweiss.* Münch. med. Wochensch. N. 26.
(438) 1892. Frank O. *Die Resorption der Fettsäuren der Nahrungsfette mit Umgehung des Brustganges.* Arch. f. Physiol., p. 497-512.
(439) 1892. Pflueger E. *Ueber die Entstehung von Fett aus Eiweiss im Körper der Thiere.* Pflüger's Arch., Bd. LI, p. 229-316.
(440) 1892. Hédon E. e Wille J. *Sur la digestion des graisses après fistule biliaire et extirpation du pancréas.* Compt. rend. Soc. Biol., t. XLIV, p. 308-310.
(443) 1894. Frank O. *Zur Lehre von der Fettresorption.* Arch. f. Physiol., p. 297-308.
(444) 1894. Bitto B. v. *Ueber die Bestimmung des Lecithingehaltes der Pflanzenbestandtheile.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, p. 488-498.
(445) 1894. Frank O. *Eine oxydative Spaltung der Fettsäuren bei gewöhnlicher Temperatur ohne Fermente.* Arch. f. Physiol., p. 50-57.
(446) 1894. Ruppel W. *Zur Kenntniss des Protagons.* Zeitsc. f. Biol. (N. F.), Bd. XIII, p. 86.
(447) 1894. Baldi D. *L'influenza del succo pancreatico in confronto alla bile nell'assorbimento dei grassi.* Arch. di farm. e terap., vol. XVII. fascic. 10.
(448) 1894. Kumagava M. *Zur Frage der Fettbildung aus Eiweiss im Thierkörper.* Maly's Jahresber., Bd. XXIV, p. 41-43.
(449) 1894. Contejan Ch. *Sur la digestion gastrique de la graisse.* Arch. de physiol., ann. XXVI, p. 125.
(450) 1895. Schmidt E. *Notiz über das Cholin.* Zeitschr. phys. Chem. Bd. XX, p. 364.
(451) 1895. Harley V. *The normal absorption of fat, and the effect of extirpation of the pancreas on it.* Journ. of Physiol., volume XVIII, pagine 1-14.
(452) 1895. Dormeyer C. *Die quantitative Bestimmung von Fett in thierischen Organen.* Pflüger's Arch., Bd. LXI, p. 341-342.
(453) 1895. Leube W. *Ueber die Verwendung von subcutan injicirtem Fett im Stoffwechsel.* Sitzungsber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg., N.° 1, p. 5-11.
(454) 1896. Thudicum J. L. W. *Ueber das Phrenosin, etc.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. LIII, p. 49.
(455) 1896. Bondzynski St. e Humnicki V. *Ueber das Schicksal des Cholesterins im thierischen Organismus.* Zeitschr. phys. Chem., Bd. XXII, p. 396-410.
(456) 1897. Schutz N. *Ueber die Vertheilung von Fett und Eiweiss beim mageren Thier, zugleich ein Beitrag zur Methode der Fettbestimmung.* Pflüger's Arch., Bd. LXVI, p. 145 166.
(457) 1897. Zuntz N. *Ueber die Fette des Fleisches.* Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin. Arch. f. Physiol., p. 149-150.
(458) 1897. Moore B. e Rockwood D. P. *On the mode of absorption of fat.* Journ. of Physiol., vol. XXI, p. 58-84.

CAPITOLO QUINTO.

Le sostanze organiche.

(Continuazione)

Le sostanze proteiche.

1. — *PROPRIETÀ GENERALI DELLE SOSTANZE PROTEICHE.*

§ 1. **Generalità.** — Le sostanze proteiche sono i costituenti principali dei tessuti animali e il sostrato chimico dei fenomeni complessi della vita.

Non tutti i liquidi e gli organi contengono la stessa quantità percentuale in peso di sostanze proteiche; questa varia anzi moltissimo, col variare specialmente del contenuto acquoso, come resulta dalla seguente tabella (Gorup-Besanez):

Tabella sedicesima.

Liquidi e organi del corpo	Contenuto in sost. prot. %	Liquidi e organi del corpo	Contenuto in sost. prot. %
Liquido cerebro-spinale . .	0,09	Chilo.	4,09
Umor acqueo.	0,14	Sangue	19,56
Liquido amniotico	0,70	Midollo spinale	7,49
Succo enterico	0,95	Cervello	8,63
Liquido pericardico . . .	2,36	Fegato	11,64
Linfa.	2,46	Timo.	12,29
Succo pancreatico	3,33	Muscoli	16,18
Sinovia	3,91	Tunica media delle arterie.	27,33
Latte.	3,94	Lente del cristallino . . .	38,30

Le sostanze proteiche sono le più complesse tra le materie organiche conosciute, quelle il cui peso molecolare è più alto e che contengono maggior numero di elementi. Esse sono anche le più instabili, in parte a causa dell'N che entra in gran quantità nella loro costituzione (Spencer); facilmente modificabili per l'azione del calore, di sali, di reattivi per sè debolissimi; caratterizzate da ordi-

namenti atomici molto complessi e delicati. Le sostanze proteiche hanno, per ciò, più d'ogni altra sostanza, attitudine a reagire a cause d'ordine chimico e fisico le più diverse che vengano ad esercitare la loro azione sopra le medesime.

Tutte le sostanze proteiche contengono **carbonio, idrogeno, azoto** e **ossigeno**; moltissime contengono anche **solfo**, alcune **fosforo**, altre anche **ferro**, in poche si trova del **rame**.

Il forte calore le altera tutte e le scompone, con sviluppo di gas infiammabili, combinazioni ammoniacali, acido carbonico, acqua, basi azotate ed altre sostanze; nello stesso tempo, emana un odore caratteristico di corno o di lana bruciata. Prolungando il riscaldamento, esse lasciano un carbone poroso e splendente, e dopo l'incenerimento completo una cenere composta principalmente di fosfato di calcio e di magnesio e di sali di potassio, oltre a diverse altre sostanze saline. Noi non sappiamo ancora con sicurezza se questi sali entrano nell'architettura propria molecolare delle proteine, o se dobbiamo considerarli come impurità: certo è quasi impossibile ottenere delle proteine prive di sali inorganici, e pare che quando ci si giunga esse ne rimangono anche profondamente alterate, specialmente nella loro solubilità.

§ 2. **Classificazione delle sostanze proteiche.** — Non essendo le sostanze proteiche degl'individui chimici ben determinati, con proprietà e reazioni costanti, non conoscendo le loro formule razionali, noi non possiamo dare una classificazione rigorosamente scientifica di esse. Molto probabilmente i corpi proteici che noi conosciamo e di cui parliamo, come di sostanze definite, non sono che polimeri di gruppi molto più semplici.

Ciò non ostante, allo scopo semplicemente di orientarci nella loro descrizione, noi diamo qui una classificazione basata sugli studi di Hoppe-Seyler e di Drechsel, di Hammarsten, di Halliburton, ecc.

CLASSIFICAZIONE DELLE SOSTANZE PROTEICHE.

A. — Proteine.

(Sostanze proteiche genuine, primitive).

Albumine	Sieralbumina (serina), ovalbumina, lattalbumina, (citalbumina? mioalbumina?), ecc.
Globuline	Fibrinogene, miosinogene, mioglobulina, citoglobulina, cristallina (della lente), sieroglobulina, (vitellina?), globina (dell'emoglobina).
Istoni	

B. — Proteine denaturate.

Proteine coagulate da enzimi . . .	Fibrina, miosina.
Proteine coagulate dal calore . . .	
Proteine denaturate da acidi e da alcali	Acidalbumina, sintonina, alcalialbumina.

C. — Nucleoalbumine.

Nucleoalbumine .	Caseina, citonucleoalbumina (ovovitellina?), piina, ecc.

D. — Proteidi.

(Sostanze proteiche composte).

Nucleoproteidi . .	Nucleoistone, ecc.
Nucleine	
Nucleoglicoproteidi	(Del pancreas, della glandola mammaria, ecc.).
Glicoproteidi. . .	Mucina, jalogene, ictulina, elicoproteide, ecc.
Lecitalbumine . .	
Cromoproteidi . .	Ossiemoglobine, carbossiemoglobina, carbodiossiemoglobina, emocianina, ecc.

E. — Albuminoidi.

(Derivati istogenetici dei corpi proteici precedenti).

Collagene	(Del tessuto connettivo, ossa, ecc.).
Reticolina . . .	(Del tessuto adenoide o reticolare).
Elastina	(Del tessuto elastico).
Cheratina. . . .	(Dell'epidermide, peli, unghie, ecc.).
(Amiloide) . . .	

(Fibroina, Sericina, Corneina, Spongina, Conchiolina, Bisso, ecc.).
(Colloide, Metabulmina, Eleidina).

F. — Prodotti della digestione delle sostanze proteiche.

Proteosi	Emiproteosi e antiproteosi. Proto-, etero-, deuteroalbumoso, globuloso, vitelloso, miosinoso, ecc.
Peptoni	Emipeptone e antipeptone.

§ 3. **Proprietà generali delle sostanze proteiche.** — Le sostanze proteiche sono sostanze che nell'acqua non dànno mai una vera e propria soluzione se non vi si trova una certa quantità di sali neutri, variabile per le diverse proteine. Quelle solubili anche in acqua distillata probabilmente debbono la loro solubilità al loro piccolissimo contenuto in sostanze minerali, che loro non possono essere sottratte, nemmeno mediante la dialisi, senza rimanerne denaturate. Altre poi hanno bisogno della presenza d'una quantità considerevole di sali alcalini, neutri o basici, dializzati o diluiti molto i quali, esse precipitano (globuline, albuminosi).

Allo stato solido, umide o precipitate di recente, formano masse bianche, fioccose o granulose; secche, sono giallastre, di consistenza cornea, più o meno translucide.

Le sostanze proteiche animali sono inodori, insipide, incolori, molto instabili, putrescibili sotto l'influenza dei fermenti, comunemente amorfe. Però, nei semi di certe piante, nel tuorlo delle ova di certi animali si vedono al microscopio delle formazioni cristalloidi che, trattate con metodi appropriati, dànno dei veri e grossi cristalli, che rappresentano per lo più la combinazione di una globulina con un sale di magnesio, di calcio, ecc. (SCHMIEDEBERG, DRECHSEL). Così GRUEBLER, sotto la guida di DRECHSEL, ottenne cristallizzati i cristalloidi dei semi di zucca, preparando delle soluzioni sature di globulina in soluzioni di $NaCl$ o di NH^4Cl o di $MgSO^4$, a 40° C, e facendo separare i cristalli di globulina e sale mediante il raffreddamento prolungato.

Recentemente sono stati anche ottenuti i cristalli di siero-albumina (MICHEL), ed io stesso ho potuto preparare grossi cristalli di quella sostanza proteica che si trova disciolta nel sangue della *Maja squinado*, saturando questo, dopo averlo liberato dalla fibrina e filtrato, con $MgSO^4$.

Dalla composizione centesimale di questi cristalli s'è voluto anche trarre la formula grezza della melecola proteica, nella quale gli elementi entrano con esponenti a dirittura enormi.

§ 4. **Preparazione dei cristalli di varie proteine.** — HOFMEISTER, BONDZYNSKI e ZOIA nel laboratorio di BUNGE hanno preparato i cristalli di ovalbumina. Ecco come B. e Z. ottenevano la cristallizzazione frazionata delle varie ovalbumine contenute nell'albume d'ovo.

Si sbatte vivamente l'albume d'ova fresche, accuratamente separato dai tuorli; si raccoglie il liquido che si separa dalla schiuma, e lo si tratta con un egual volume di soluzione satura di solfato d'ammonio. Si filtra, per allontanare il precipitato di ovoglobuline; e si lascia lentamente evaporare in larghi e bassi cristallizzatori il filtrato limpidissimo, che di solito ha un colore roseo più o meno in-

tenso. In pochi giorni si formano alla superficie, al fondo e sulle pareti dei vasi minuti e delicati mammelloni biancastri. Si raccoglie dopo alcuni giorni questa massa biancastra su un filtro (filtrazione nel vuoto). Nel filtrato lasciato ancora lentamente evaporare si va formando un nuovo precipitato.

La massa biancastra raccolta sul filtro è in parte solubile in una soluzione semisatura di $(NH^4)^2 SO^4$, in parte vi è insolubile. Si separa quest'ultima frazione filtrando; la si scioglie in acqua, e alla soluzione che si fa rapidamente e completa, si aggiunge a gocce una soluzione satura di solfato d'ammonio fin che l'intorbidamento, che ad ogni nuova aggiunta si forma, persista; si ridiscioglie questo leggiero precipitato con qualche goccia d'acqua distillata e si filtra.

Così si hanno, dalla primitiva soluzione di ovalbumina, tre porzioni, di cui la prima (*f*) rappresenta la parte solubile in soluzione più concentrata di $(NH^4)^2 SO^4$, la seconda (*b*) la parte solubile in soluzione semisatura di solfato d'ammonio, la terza (*a*) la parte solubile solo in una soluzione più diluita dello stesso sale.

Da queste tre soluzioni si ottengono nuove precipitazioni per lenta evaporazione e i singoli precipitati si comportano come i precipitati da cui esse derivano. La frazione più difficilmente solubile in solfato d'ammonio (*a*) è quella che più rapidamente dà luogo a formazione di cristalli; in quella più facilmente solubile in solfato d'ammonio (*f*), la formazione dei cristalli richiede un tempo più lungo.

Con successive cristallizzazioni, si giunge ad ottenere veri cristalli regolari grossi, in forma di tavolette, aventi al più sei facce, non presentanti a nicols incrociati doppia rifrangenza apprezzabile a luce polarizzata, e probabilmente appartenenti al sistema monoclino o triclino.

Bondzynski e Zoia pensano che la maggior tendenza a cristallizzare delle varie porzioni, forse più che a purezza maggiore del preparato, sia dovuta a una speciale disposizione molecolare, che l'albumina va acquistando nei successivi trattamenti con solfato d'ammonio, sia in conseguenza di depolimerizzazione, come crede Gabriel, sia per apposizione di acqua di cristallizzazione. Notevole è il fatto che le soluzioni dei cristalli filtrano rapidamente, come se l'albumina avesse perduto le sue proprietà colloidali.

I cristalli depurati, **privati del sale** e disseccati fino a peso costante, e analizzati, hanno la seguente composizione:

	Frazione Aa_2	Frazione Ba_2	Frazione Ab_2	Frazione Bf_2
C . . .	52,44 %	52,33 %	52,39 %	52,07 %
H . . .	7,26 »	7,13 »	6,95 »	6,98 »
N . . .	15,50 »	15,47 »	15,11 »	15,29 »
S . . .	—	1,614 »	1,7 »	1,693 »
O . . .	—	23,48 »	23,85 »	23,97 »

Da queste cifre resulta una diminuzione del C, dell'H e dell'N, e un aumento dello S nelle frazioni più facilmente solubili in solfato d'ammonio: le differenze sono però piccolissime e stanno nei limiti degli errori inevitabili. Differenze maggiori si vedono, però, confrontando queste cifre con quelle note precedentemente della composizione dell'ovalbumina (ved. OVA).

Gli Autori determinarono anche il punto di coagulazione e il potere specifico di rotazione dei cristalli contenenti solfato ammonico sciolti in acqua, e ottennero i seguenti resultati:

Frazioni della massa cristallina e seminata	Punto di coagulazione	Contenuto % in albumina della soluzione Gr.	Contenuto % in $(NH^4)^2SO^4$ della soluzione	Potere rotatorio specifico α (D)
Ba_2	64°,5 C	6,48	1,57	— 25°,8'
	64°,5 »	(diluita)	—	—
	64°,5 »	3,24	0,78	—
	—	9,44	2,26	— 26°,2'
Bm	—	11,27	2,73	— 29°,16'
Bb_2	—	8,59	—	— 34°,18'
Bf_2	55°,5-56° C	3,75	2,00	— 42°,54'

Dalle frazioni più difficilmente solubili in soluzione di solfato ammonico salendo a frazioni più facilmente solubili, si trova dunque un graduale aumento del potere rotatorio specifico ed una differenza non trascurabile del punto di coagulazione: vale a dire, esistono differenze nelle proprietà fisiche delle diverse frazioni d'albumina d'ovo ottenute.

§ 5. **Proteine prive di ceneri e loro preparazione.** — Contrariamente però a quanto aveva affermato HOFMEISTER, i cristalli di ovalbumina preparati con questo metodo non sono privi di ceneri, poichè B. e Z. vi trovarono 0,55 % di fosfato calcico; e una serie di fatti fa ritenere che questo sale esista chimicamente combinato nella molecola dell'ovalbumina, come, forse, in tutte le altre proteine animali.

BUELOW venne alla conclusione che nella preparazione di albumina priva di ceneri nascono anche dallo stesso materiale diverse specie di proteine, le quali somigliano nelle proprietà fondamentali, ma differiscono pur sempre fra loro in alcune loro proprietà accessorie.

Per preparare l'albumina priva di ceneri, BUELOW si servì del metodo di HARNACK. L'albume di dodici uova, eliminate le globuline mediante l'acido acetico, fu sopraneutralizzato con Na^2CO^3 e precipitato con $CuSO^4$. L'albuminato ricco di Cu così ottenuto fu trasformato in uno meno ricco di Cu, sciogliendolo e riprecipitandolo successivamente con soluzione di KOH diluita e con acido acetico. Il precipitato definitivo fu tritato in acqua e poi mescolato con solu-

zione forte (1 : 1) di KOH finchè si formasse una soluzione violetta, che poi, dopo essere stata lasciata in riposo per 24 ore, fu precipitata con HCl diluito. Il precipitato fu separato per filtrazione e poi lavato con H^2O, acidulata con HCl, e con H^2O semplice; quindi fu sciolto in acqua calda, e la soluzione fu dializzata. Dopo un certo tempo, quando nell'acqua esterna del dializzatore non si trovava più HCl e Cu, tutti i giorni si trovava nell'interno del dializzatore un precipitato. I vari precipitati furono analizzati separatamente.

Secondo Buelow, l'albumina affatto pura, priva di ceneri, è insolubile in acqua, ma si lega, a guisa degli amido-acidi, tanto con acidi quanto con basi, formando sali solubili in acqua; anzi la combinazione con le basi ha luogo in due proporzioni differenti.

Le soluzioni delle combinazioni proteiche acide sono molto sensibili ai sali neutri; una piccola quantità di questi produce una precipitazione di proteina; mentre le soluzioni delle combinazioni alcaline si dimostrano indifferenti verso i sali neutri.

§ 6. **Ancora delle combinazioni salino-proteiche.** — La questione dell'albumina priva di ceneri si riconnette con l'altra importantissima delle combinazioni normali salino-proteiche che entrano nella composizione dei protoplasmi viventi, della quale abbiamo parlato, trattando dei sali minerali, e sulla quale vogliamo ora ritornare.

Fino a poco tempo fa si credeva generalmente che le sostanze minerali esistenti nei corpi proteici (come il K, il Na, il Ca, il Mg, il P, il Cl, ecc.), e che si incontrano anche nell'incinerire proteine così dette pure, fossero impurità accidentali, difficili ad eliminare, della **proteina ideale considerata come priva di ceneri.** Il fatto è però che una tale **proteina ideale,** composta esclusivamente di C, H, N, O e S, da nessuno è stata mai ottenuta in forma naturale, e molto probabilmente non esiste nella sostanza vivente. Anche l'albumina priva di ceneri preparata da E. Harnack contiene, secondo le analisi di Werigo, di Stohmann e Langbein, del Cl. Harnack però afferma d'essere giunto ad allontanare questo Cl mediante una dialisi protratta; l'albumina, però, perdette in conseguenza di questo trattamento le sue proprietà, poichè divenne insolubile in acqua. Harnack stesso, in seguito ai resultati delle ricerche di Bondzynski e Zoja, afferma di venire sempre più persuadendosi che, quanto i detti autori hanno trovato per il fosfato calcico è vero per tutte le altre sostanze minerali considerate come ceneri dei nostri alimenti.

Ciò ha per noi il massimo interesse, e conferma quanto abbiamo detto avanti (v. Sostanze minerali).

Nessuno dubita più, infatti, che l'acido fosforico sia un costituente essenziale e caratteristico della molecola di molte proteine vegetali, specialmente delle leguminose, e delle nucleine animali; e per il Cl.

ciò è stato dimostrato recentemente da SIMANOWSKY e SCHUMOW, per quanto riguarda la pepsina. NENCKI poi crede che il K, il Na, il Ca, il Mg, l'H^3PO^4 e il Cl, allo stesso modo come il Fe nell'emoglobina, non solamente costituiscono parti integranti essenziali delle diverse molecole proteiche, ma che loro spetti un determinato significato funzionale negli organismi viventi vegetali e animali. Già la distribuzione peculiare e costante del Cl negli organi del corpo animale, dimostrata dal NENCKI, parla in favore di ques'ipotesi, e il fatto ancora che il Na Cl è ceduto dal sangue ai singoli organi secondo leggi determinate. Molto interessante sarebbe, a questo riguardo, conoscere la distribuzione topografica delle varie sostanze minerali nell'organismo. Da simili studi molto probabilmente si avrebbero resultati, che getterebbero una viva luce sul metabolismo locale dei singoli organi.

È chiaro che le sostanze proteiche combinate con alcali o con terre alcaline (caseina, ecc.) hanno un còmpito diverso da quelle che sono combinate con H^3PO^4 o con Cl (nucleoalbumine, sintonine, sieroproteine, ecc.). La topografia, da una parte delle singole basi (K, Na, Ca e Mg), e dall'altra degli acidi minerali (spec. H^3PO^4 e HCl), dovrà chiarirci la fondamentale differenza fra le **proteine organizzate funzionanti** (miosinogene, ecc.), le **proteine circolanti derivate dall'alimentazione** e destinate a intrattenere il metabolismo degli organi, e le **proteine non organizzate,** ma più stabili delle seconde, che si trovano disciolte nei succhi cellulari e sono anche funzionanti (nucleoalbumine, globuline, emoglobine).

§ 7. Un'importanza grandissima, come vedemmo, hanno le combinazioni salino-proteiche nel trasporto e nell'eliminazione dei sali minerali tossici, poichè essi formano vere combinazioni chimiche con le sostanze proteiche, che li trasportano verso gli organi escretori. Secondo le ricerche di LEHMANN, il Pb si ammassa prevalentemente nel fegato e passa nella bile; secondo le ricerche di SAMOJLOFF e LIPSKI, il Fe viene eliminato per il tubo intestinale, mentre E. LUDWIG trovò che il Hg si accumula principalmente nei reni, per i quali viene eliminato.

Noi non sapremmo finora dare un'interpretazione di questa specie di attrazione elettiva dei parenchimi dei vari organi verso le varie sostanze minerali; ma probabilmente trattasi di peculiari affinità esistenti fra le diverse sostanze proteiche organizzate o disciolte nei succhi cellulari, che finora noi consideriamo per ignoranza come affatto simili tra loro, e i sali dei diversi metalli.

Ma anche nel trasporto dei sali insolubili o poco solubili le sostanze proteiche compiono un ufficio importantissimo.

Infatti i sali di Ca, che esistono in ogni protoplasma animale, debbono essere necessariamente combinati nella molecola proteica,

perchè altrimenti non si capirebbe in qual modo, per esempio, il fosfato di calcio insolubile potrebbe essere trasportato ai tessuti da un liquido alcalino com'è il sangue. D'altra parte, l'abbondante contenuto in Ca dell'albumina d'ovo e della caseina del latte, dimostra che anche le proteine disciolte, anche le proteine circolanti tengono il Ca combinato nella loro molecola.

A questo proposito non sarà inutile rammentare che, secondo DANILEWSKY, il gruppo CO OH della molecola proteica è legato col Ca, perchè nelle sostanze proteiche si trova una quantità di Ca superiore a quella che sarebbe sufficiente, se esso non si trovasse combinato che col P.

Sembra, poi, che non sia, fino a un certo punto, molto difficile sostituire, nella molecola proteica **non vivente**, un metallo ad un altro; ciò che s'intenderebbe di leggieri, data la combinazione chimica non molto stabile fra sostanze proteiche e minerali. Uno dei più belli esempi di questa sostituzione ce l'ha fornito PICKERING, il quale ha osservato che i sali di nichelio spostano i sali di cobalto, e quelli di rame spostano i sali di nichelio nella stessa molecola proteica, dando successivamente le rispettive tipiche reazioni colorate. Nello stesso modo si comportano la gelatina, l'elastina, il peptone, e anche il biureto.

Relativamente, però, alle proteine viventi, noi non sappiamo quasi nulla in proposito. Le ricerche del SANTARELLI furono riferite sopra. Io ho fatto anche delle indagini per vedere se fosse possibile sostituire il K al Na nei globuli rossi di quegli animali che sono caratterizzati da emazie più ricche in Na, e viceversa, e riferirò i resultati in seguito (ved. SANGUE). Ma sin da ora possiamo dire che i tessuti animali hanno la tendenza a conservare inalterata la loro composizione minerale qualitativa e quantitativa, in base appunto al principio generale dell'attrazione elettiva dei sali minerali da parte degli elementi cellulari.

§ 8. Le sostanze proteiche appartengono alla categoria delle **sostanze colloidi** di GRAHAM; esse non passano a traverso le membrane animali umide o la pergamena artificiale, ed hanno un altissimo equivalente osmotico. Questa proprietà, come vedremo, hanno in comune con alcuni composti inorganici (acido silicico, idrato d'alluminio, ossido di ferro, soluzione ammoniacale di ossido di rame), e con altri composti organici azotati, o anche non azotati, quali, per esempio, le gomme. Ma di questa proprietà fisica delle sostanze proteiche ci occuperemo in un capitolo speciale. Qui aggiungeremo solamente che fra queste sostanze i peptoni, e un pochino anche alcuni dei proteosi, fanno solamente eccezione, essendo diffusibili. Ciò dimostra che i peptoni rappresentano dei prodotti di scomposizione delle sostanze proteiche, relativamente molto semplici.

Per questa proprietà, le sostanze proteiche possono essere purificate dai sali e dalle altre sostanze estrattive che si trovano nelle loro soluzioni, mediante la dialisi. Per far ciò, si mette il liquido proteico in uno dei dializzatori più comuni (ved. PARTE TERZA), e vi si aggiungono alcuni cristallini di timolo, per impedirne la putrefazione. A un certo momento, quando cioè i sali sono tutti dializzati, si osserva che nel liquido interno si produce un precipitato, formato dalle sostanze proteiche insolubili in H^2O in assenza di sali minerali (globuline, ecc.).

Vedemmo che lo stato colloide delle sostanze proteiche non impedisce di ottenerle anche in forma cristallizzata.

§ 9. Tutte **le sostanze proteiche agiscono sulla luce polarizzata,** e sono levogire.

Il potere di deviazione per la linea gialla D, essendo specifico per alcune di queste sostanze prese in soluzioni della stessa concentrazione ed esaminate tutte in uno strato del medesimo spessore, può servire come mezzo di distinguerle, quando sono in soluzione pura, e di determinarne la quantità.

Ecco alcuni valori stabiliti da diversi osservatori:

Sieroalbumina.	α (D) = $-56^0,0$
»	» = $-60^0,0$
Ovalbumina	» = $-33^0,5$
Lattalbumina	» = $-36^0,0$ a $-37^0,0$
Sieroglobulina.	» = $-59^0,75$
Fibrinogeno	» = $-43^0,0$; $-52^0,5$
Alcalialbumina	» = $-62^0,2$
Sintonina (di miosina).	» = $-72^0,0$
Caseina (sciolta in $MgSO^4$) . . .	» = $-80^0,0$
Diversi albumosi	» = $-70^0,0$ a $-80^0,0$
Paraglobulina	» = $-47^0,8$

Il potere rotatorio specifico delle sostanze proteiche è molto influenzato dal loro contenuto in sostanze estranee (BUELOW); per questa ragione il metodo polarimetrico, per la determinazione quantitativa di esse, non è da preferirsi.

§ 10. Intorno al **peso molecolare** e alla **costituzione della molecola proteica,** pochissimo sappiamo ancora di sicuro. Sarebbe fuori di luogo fare qui la storia delle diverse ipotesi emesse di tempo in tempo a questo proposito.

Diremo solamente che LIEBERKUEHN, fatto l'esame di un albuminato potassico e studiata la composizione dei sali metallici corrispondenti, dette per l'albumina la seguente formula:

$$C^{72}H^{112}N^{18}O^{22}S,$$

secondo la quale il corrispondente peso molecolare sarebbe 1612, vale a dire eccessivamente basso.

HARNACK, analizzando delle combinazioni cupriche dell'ovalbumina, arrivò a dare quest'altra formula:

$$C^{204} H^{322} N^{52} O^{66} S^{2},$$

cui corrisponderebbe un peso molecolare di 4618.

Anche LOEW, studiando alcune combinazioni argentiche di corpi proteici, giunse a pesi molecolari molto alti, ed accettò la formula di LIEBERKUEHN. Secondo GRUEBLER, che sotto la direzione di DRECHSEL ottenne vari globulinati alcalini e metallici, la formula minima di questi sarebbe:

$$C^{292} H^{481} N^{90} O^{82} S,$$

cui corrisponde un peso molecolare pari a 6637.

In fine, di molta utilità è stato a questo riguardo lo studio di un proteide ferruginoso, naturalmente cristallizzabile, l'emoglobina, cui s'è potuto attribuire, basandosi sulla conoscenza dell'ematina e del rapporto esistente tra lo S e il Fe (2 atomi di Fe per 1 di S) nella detta sostanza, la formola:

$$C^{112} H^{1130} N^{214} O^{245} Fe S^{2},$$

donde, sottratta l'ematina:

$$C^{32} H^{32} N^{4} O^{4} Fe,$$

si ha, per la globulina speciale che entra nella composizione dell'emoglobina, la formola:

$$C^{680} H^{1098} N^{210} O^{241} S^{2},$$

il cui peso molecolare sarebbe pari a 16218.

Ma qui abbiamo da fare già con proteidi, che sono sostanze relativamente più complesse delle proteine. Per ciò si potrebbe forse ritenere per l'ovalbumina, la formola data da SCHUETZENBERGER:

$$C^{240} H^{392} N^{65} O^{75} S^{3} = 5478 \text{ (p. mol.)},$$

o quella di GAUTIER:

$$C^{250} H^{409} N^{67} O^{81} S^{3} = 5739 \text{ (p. mol.)}.$$

Recentemente SCHMIEDEBERG, basandosi in gran parte sulle analisi elementari di autori precedenti, ha calcolato le formole di molte sostanze proteiche. Il calcolo era eseguito in modo che dapprima egli non teneva direttamente conto del contenuto in S, ma lo calcolava insieme con l'O. La formola priva di S così ottenuta, corrispondente precisamente ai dati numerici, era poi moltiplicata corrispondentemente al contenuto in S — ordinariamente era duplicata o triplicata —, e in questa nuova formola due atomi di O erano sostituiti da un atomo di S. Questa formola contenente S costituisce,

come a dire, la formola fondamentale del rispettivo corpo proteico. Essa dà un'imagine della sua composizione elementare, non tenendo conto del suo peso molecolare, che può essere un multiplo del peso della formola fondamentale e che rimane sconosciuto. Ecco alcuni esempi delle formole così calcolate da SCHMIEDEBERG:

Sieralbumina $= C^{78} H^{122} N^{20} SO^{24}$,

Ovalbumina $= C^{80} H^{122} N^{20} SO^{24}$,

Miosina $= C^{108} H^{172} N^{30} SO^{33}$,

Fibrinogene del sangue di cavallo (HAMMARSTEN)

$$= C^{111} H^{168} N^{30} SO^{35},$$

Fibrina (raccolta mediante la defibrinazione del sangue)

$$= C^{111} H^{168} N^{30} SO^{35} + {}^1/_2 H^2 O,$$

Fibrina, prodotto di fermentazione del fibrinogene

$$= C^{108} H^{162} N^{30} SO^{34},$$

Fibrina, prodotto di coagulazione del fibrinogene

$$= C^{108} H^{162} N^{30} SO^{34} + H^2 O,$$

Globulina che si stacca dal fibrinogene durante la formazione di fibrina per coagulazione

$$= C^{114} H^{176} N^{30} SO^{37},$$

Globulina che si stacca dal fibrinogene durante la formazione della fibrina per fermentazione

$$= C^{114} H^{176} N^{30} SO^{37},$$

Paraglobulina del sangue di cavallo o di bue

$$= C^{117} H^{182} N^{30} SO^{38} + {}^1/_2 H^2 O.$$

Altre formole (di prodotti della digestione) di sostanze proteiche, calcolate anche da SCHMIEDEBERG nel modo suddetto, daremo in seguito, e avremo anche occasione di ritornare sopra alcune di quelle ora riportate.

§ 11. **Composizione centesimale dei corpi proteici.** — Come si vede, si tratta di molecole enormemente grosse, nelle quali non è stato possibile finora scorgere il modo di distribuzione e disposizione dei vari gruppi atomici elementari.

Tuttavia tentativi sono stati fatti, e noi non manchiamo di riferirne qui i resultati, per quanto finora siano scarsi.

Lo studio della composizione centesimale di vari corpi proteici è stato fatto su larga scala. Esso ha dimostrato che non esistono, in generale, differenze molto profonde fra i medesimi, come si può vedere dando uno sguardo alle seguenti tre tabelle.

Tabella diciassettesima.

Composizione centesimale di alcune sostanze proteiche (BEAUNIS).

Sostanze proteiche	C	H	N	O	S
Albumina (?)	52,7	6,9	15,4	20,9	0,8
Id. (?)	54,5	7,3	16,5	23,5	2,0
Fibrina	52,5	7,0	17,4	21,9	1,2
Caseina (latte di donna)	52,3	7,2	14,6	25,7	—
Id. (latte di mucca)	53,6	7,4	14,2	24,7	—
Sintonina	54,1	7,3	16,1	21,5	1,1
Peptone (?)	51,4	6,95	17,1	23,45	1,1
Sostanza amiloide	53,6	7,0	15,5	22,5	1,3
Collagene	50,0	6,7	18,0	24,5	0,5
Mucina	49,5	6,7	9,6	34,2	—
Glutine	50,0	6,7	18,1	24,6	0,5
Condrina	58,0	6,6	14,4	29,0	0,6
Elastina	55,5	7,4	16,7	20,4	—
Cheratina	50,0	6,4	16,2	20,0	0,7

Tabella diciottesima.

Composizione centesimale di alcune sostanze proteiche vegetali (GAUTIER).

Sostanze proteiche	C	H	N	O	S	Ceneri	P^2O^5
Albumina vegetale (orzo)	52,86	7,33	15,75	22,98	1,18	3,6	tracce
Caseina vegetale (noce di Para)	52,43	7,12	18,10	21,80	0,55	1,58	0,82
Conglutine (mandorle)	50,24	6,81	18,37	24,13	0,45	2,66	1,28
Legumina (piselli)	51,48	7,02	16,77	24,33	0,4	3,58	3,1
Caseina di glutine (frumento)	52,94	7,04	17,14	21,91	0,95	—	molta

In quest'ultima tabella, finalmente, si vede la composizione centesimale media di alcune sostanze proteiche calcolata da SCHMIEDEBERG sui dati analitici, specialmente di HAMMARSTEN.

Tabella diciannovesima.

Sostanze proteiche	C	H	N	O	S	Autori
Miosina	52,82	7,11	16,82	—	1,26	KUEHNE e CHITTENDEN
Fibrina del plasma di cavallo (fermentazione)	52,68	6,82	16,91	—	1,10	HAMMARSTEN
Fibrina del plasma di cavallo (coagulazione)	52,46	6,83	16,93	—	1,24	»
Globulina di fibrinogene (coagulazione)	52,84	6,91	16,25	—	1,03	»
Globulina di fibrinogene (fermentazione)	52,70	6,98	16,07	—	—	»
Fibrinogene del sangue di cavallo	52,90	6,89	16,68	—	1,25	»
Paraglobulina	52,70	7,01	15,76	—	1,12	»

§ 12. **Studio dei prodotti di scomposizione dei corpi proteici.** — Un metodo che ha dato finora buoni resultati consiste nello scindere violentemente la colossale molecola proteica in modi svariati, e dallo studio dei prodotti di disintegrazione, molto più semplici, non solamente stabilire la qualità loro e il numero dei gruppi atomici che entrano a far parte della molecola, ma indurre anche la costituzione propria di essa.

In sostanza, è il metodo che permise a CHEVREUL di scoprire la costituzione dei corpi grassi, e che fu usato, per la prima volta, da SCHUETZENBERGER nello studio dei corpi proteici.

Naturalmente non potremmo riferire utilmente i resultati di queste ricerche, senza parlare nello stesso tempo dei prodotti di decomposizione delle varie sostanze proteiche finora ottenuti. Non bisogna però nascondersi che dei moltissimi prodotti di scomposizione delle sostanze proteiche, che verremo enumerando, solo pochi relativamente compariscono durante la normale disintegrazione dei proteici nell'organismo vivente. Infatti, come vedremo, nel corpo i prodotti catabolici principali sono l'CO^2, H^2O, l'urea, poi la glicocolla, la leucina, l'acido urico, ecc.; e, come prodotti di scissione più complessi, il glicogene e, secondo molti, il grasso.

1. Per **distillazione secca,** le sostanze proteiche sviluppano dei fumi aventi un odore di corno bruciato, lasciando in dietro un carbone splendente, voluminoso e poroso, ricco di corpi azotati. Nei prodotti della combustione si trovano: acidi grassi volatili (acetico, butirrico, valerico, caproico, ecc.) combinati con l'NH^3; solfuro, cianuro, carbonato d'NH^3; metilamina, butilamina, propilamina, amilamina; un residuo oleoso assai complesso (olio di DIPPEL), contenente degli idrocarburi e altre sostanze; fenoli; basi non ossigenate appartenenti alla serie della piridina (C^5H^5N), dell'anilina (C^6H^7N), del pirrolo (C^4H^5N), dello scatolo (C^9H^9N), ecc.

2. Molti corpi proteici riscaldati alla temperatura di 130°-150° C, **in presenza di acqua,** entro tubi chiusi alla fiamma, si trasformano in corpi solubili, che possono essere considerati come prodotti d'incipiente **idratazione,** a giudicare dalle sostanze che si ritrovano nel liquido (leucina, tirosina, ecc.).

Scaldati in vasi aperti, dànno invece un residuo insolubile, oltre a gas solforati, sostanze solubili in alcool ed etere, ecc.

Gli albuminoidi, trattati in questo modo, si trasformano in sostanze solubili in acqua (Ved. in seguito).

3. Gli **acidi minerali diluiti** (HCl, H^2SO^4 0,5-1,0 %) sottraggono da prima le sostanze minerali incorporate nella molecola proteica, precipitando le proteine, e poi rigonfiano i corpi proteici insolubili, trasformandoli in **acidoproteine** o **sintonine** solubili finchè si mantiene acida la reazione del liquido. Dializzando l'acido, o neutraliz-

zandolo, le sostanze proteiche precipitano, senza tornare più allo stato primitivo. Le sintonine sono vere combinazioni di molecole proteiche più semplici delle primitive con gli acidi corrispondenti.

Sotto l'azione degli **acidi minerali mediocremente diluiti e del calore**, le sostanze proteiche si scindono, formandosi **emiproteina**, una sostanza gelatinosa insolubile in acqua, alcool, etere, e avente la seguente composizione centesimale:

C	52,66	—	54,83
H	7,01	—	7,31
N	14,22	—	15,08
S	(tracce)		

e un'altra sostanza amorfa solubile in acqua, insolubile in alcool, leggermente acida, l'**emialbumina**, avente questa composizione centesimale:

C	50,0
H	7,0
N	15,4

cui corrisponderebbe la formola $C^{24} H^{40} N^{6} O^{10}$.

Nel liquido si trovano inoltre: piccola quantità d'un acido azotato ($C^{24} H^{40} N^{6} O^{15}$), una sostanza riducente il liquido di FEHLING e un corpo analogo alla sarcina.

L'emiproteina, bollita a lungo con $H^2 SO^4$ diluito, lentamente si scioglie, trasformandosi in **emiproteidina**:

C	47,73	—	45,70	—	46,1
H	6,48	—	6,6	—	6,7
N	14,5	—	—	—	15,0,

cui corrisponderebbe la formola $C^{24} H^{42} N^{6} O^{12}, H^2 O$; e compariscono contemporaneamente la leucina, la tirosina, ecc.

Bollendo diverse sostanze proteiche con **$H^2 SO^4$ concentrato**, si sono poi ottenute le seguenti quantità di leucina e tirosina (ERLENMAYER e SCHAEFER):

Tabella ventesima.

Sostanze proteiche	Leucina	Tirosina
Elastina	35-45 %	0,25 %
Fibrina	14 »	0,8 »
Sintonina	18 »	1,0 »
Ovalbumina . . .	10 »	1,8 »
Cheratina	10 »	3,6 »

In quest'ultimo trattamento, si ottengono anche: acido aspartico, acido glutamico.

4. Gli **alcali diluiti** (Na OH 1-2 %) sciolgono i corpi proteici, formando delle alcalialbumine, che, neutralizzando la soluzione, precipitano.

Gli **alcali più concentrati** alterano anche a freddo la molecola proteica, di cui un nucleo resiste (è la **proteina** di MULDER), una parte si scioglie, un'altra si scompone ulteriormente. Si forma CO^2, acido ossalico; lo S si separa in forma di solfuro alcalino e d'iposolfito, ecc.

Basandosi su questi resultati, MULDER ammise che le sostanze proteiche sono combinazioni della sua « **proteina** » con quantità diverse di S. Quest'opinione di MULDER è stata poi completamente abbandonata; di tutto il suo lavoro non è rimasto che il nome « **proteina** ».

Bollendo a lungo con **alcali concentrati**, dai corpi proteici si sviluppa NH^3, e nel liquido si trova leucina e tirosina.

Trattandoli con KOH fondente, si formano anche leucina e tirosina; e inoltre sali potassici degli acidi grassi inferiori e dell'acido ossalico, butalanina, NH^3, pirrolo, indolo, scatolo, fenolo.

Sui prodotti che si ottengono trattando i proteici con $Ba\ (OH)^2$, torneremo subito in modo speciale.

5. **Ossidando** alcune sostanze proteiche con **permanganato potassico** in soluzione alcalina, si sarebbe ottenuto dell'urea (BÉCHAMP, RITTER) e un acido **ossiprotsulfonico** (MALY):

$$[C51,21;\ H6,89;\ N14,59;\ S1,77;\ O25,54],$$

che non è un prodotto di scissione, ma di ossidazione, in cui il gruppo SH s'è trasformato nel gruppo $SO^2.OH$. Quest'acido non dà la reazione di MILLON e non dà i gruppi aromatici nella sua scomposizione, non perchè essi manchino, ma perchè vi si trovano, forse, incorporati in uno stato speciale differente da quello in cui si trovano nelle sostanze proteiche genuine.

Ma le antiche osservazioni di BÉCHAMP e RITTER, secondo cui in questa scomposizione delle sostanze proteiche comparirebbe dell'urea, sono state infirmate da STAEDELER, LOEW e TAPPEINER e più recentemente da LOSSEN, il quale ha dimostrato che il corpo, che era stato scambiato per urea, era guanidina. Finora l'urea, la creatina, ecc. rimangono prodotti del metabolismo esclusivamente normale delle sostanze proteiche.

BONDZYNSKI e ZOJA, invece di ossidare l'albume d'ovo grezzo, ossidarono i cristalli d'ovalbumina ottenuti mediante la cristallizzazione frazionata con $(NH^4)^2\ SO^4$. Il prodotto acido d'ossidazione aveva la seguente composizione centesimale, poco differente da quella trovata da MALY:

	B. e Z.	(MALY)
C	50,73	51,21
H	7,02	6,89
N	14,70	14,59
S	—	1,77
O	—	25,54

Questi autori inoltre dimostrarono che il processo d'ossidazione, per l'emoglobina e per la caseina, decorre in modo differente (Ved. EMOGLOBINA, CASEINA).

Ossidando le sostanze proteiche con un miscuglio di biossido di manganese e di bicromato potassico, si ottengono le aldeidi acetica, propionica, butirrica, benzoica, gli acidi grassi corrispondenti e finalmente formonitrile (CNH) e valeronitrile. Ossidandole con biossido di manganese e acido solforico, si ottengono acido cianidrico e cianuri di propile e di butile (GULKENBERGER).

6. Le sostanze proteiche si sciolgono nell'acido nitrico, formando con esso un liquido giallastro, in cui l'H^2O dà un precipitato di **acido xantoproteico,** che è anche insolubile in alcool, etere, mentre si scioglie negli acidi concentrati e negli alcoli.

L'acqua regia scioglie anche le sostanze proteiche, e a caldo si formano, in tali condizioni, degli oli volatili (clorazoli), acido fumarico e ossalico, leucina, tirosina, ecc.

7. U. SCHIFT, trattando delle proteine in soluzione con nitrito potassico e acido acetico, vale a dire con acido nitroso, ha ottenuto un composto giallognolo pulverolento, il quale è capace ancora di essere sciolto da acido cloridrico e pepsina, ma che non dà più la reazione del biureto. L'analisi elementare di questa **desamido-albumina,** com'egli ha chiamato il detto composto, gli ha dimostrato che due gruppi NH^2 avevano abbandonato la molecola proteica; onde la mancanza della reazione del biurete.

8. HLASIWETZ e HABERMANN ottennero, nella decomposizione chimica delle sostanze proteiche, leucina, tirosina, acidi aspartico e glutamico.

ERLENMEYER e SCOEFFER giunsero ai medesimi resultati, seguendo speciali metodi.

9. Ma fu lo studio dell'**azione della barite caustica** in presenza di acqua, alla temperatura di 100° o di 200° C, che dette a SCHUETZENBERGER i migliori resultati, sebbene già prima di lui NASSE avesse cercato di chiarire la costituzione delle sostanze proteiche trattandole con barite in tubi chiusi, ad alta temperatura.

Tutte le sostanze proteiche, trattate con tre parti d'idrato baritico per 50-60 ore, dànno, oltre un residuo fisso sul quale torneremo poi, dell'NH^3 libera, dell'acido carbonico, dell'acido ossalico, e una piccola quantità di olio odorante volatile di costituzione pirolica. Per ciascuna specie proteica la quantità assoluta di questi prodotti è diversa, ma si constata la medesima relazione tra l'NH^3 e i due acidi, nel senso che **queste sostanze si trovano sempre nelle proporzioni necessarie per formare urea** $[CO(NH^2)^2]$ **e oxamide** $[C^2O^2(NH^2)^2]$, come resulta dalla seguente tabella, in cui solo il glutine fa eccezione a questa legge generale trovata da SCHUETZENBERGER:

Tabella ventunesima.

Prodotti di scomposizione	Lana	Capelli	Osseina	Ittiocolla	Fibroina della seta	Condrina	Gelatina	*Glutine*
N ammoniacale. . . .	5,3	5,14	3,35	3,4	2,0	2,88	2,8	*4,62*
$BaCO^3$	20,3	19,8	14,02	13,24	9,0	11,0	12,2	*5,2*
BaC^2O^4	20,4	19,4	9,8	11,3	8,1	11,4	8,9	*7,5*
N calcolato secondo la legge precedente . .	5,3	5,1	3,15	3,22	2,2	2,87	2,79	*1,63*

Il residuo fisso, che costituisce per l'albumina d'ovo il 96,0-96,5 % della sostanza primitiva secca, esaminato con metodi adequati, si compone:

a) Di una piccola quantità di **tirosina** (3-3,5 %):

$$C^9H^{11}NO^3,$$

o d'un derivato amidato d'un acido idrocumarico:

$$C^6H^4 \begin{cases} C^2H^3 \begin{cases} CO.OH \\ NH^2 \end{cases} \\ OH \end{cases}$$

che dà le reazioni colorate di MILLON o di PIRIA.

b) Di acidi amidati della formola generale $C^{11}H^{2n+1}NO^2$. Essi sono:

Alanina (acido amido-propionico)

$$\frac{CH^3-CH(NH^2)-COOH}{=(C^3H^7NO^2)}$$

Butalanina (acido amido-butirrico)

$$\frac{CH^3-CH^2-CH(NH^2)-COOH}{=(C^4H^9NO^2)}$$

Acido amidovalerianico

$$\frac{CH^3-CH^2-CH^2-CH(NH^2)-COOH}{=(C^5H^{11}NO^2)}$$

Leucina (acido amido-capronico)

$$\frac{CH^3-CH^2-CH^2-CH^2-CH(NH^2)-COOH}{=(C^6H^{13}NO^2)}$$

Acido amido-enantilico

$$C^7H^{15}NO^2.$$

c) Dei composti della formola $C^nH^{2n-1}NO^2$, designati col nome generico di **leuceine**, ed altri rispondenti alla formola $C^nH^{2n}N^2O^4$ (**glico-proteine** di SCHUETZENBERGER), ecc. SCHUETZENBERGER dette la seguente formula completa della glicoproteina:

$$COOH.C^nH^{2n}NC^pH^{2p}.COOH,$$

e la considerò come concatenata con l'urea o con l'ossamide per uno dei suoi gruppi carbossilici.

Le glico-proteine si scinderebbero in amido-acidi, assumendo H^2O.

d) Dei corpi più ricchi in O del tipo $C^nH^{2n-1}NO^4$, fra i quali si distinguono:

l'acido aspartico . . . $\underline{\begin{array}{l} CH^2 - COOH \\ | \\ CH(NH^2) - COOH \end{array}}$, $= (C^4H^5NO^4)$

e l'acido glutamico . . $\underline{\begin{array}{l} CH^2 - COOH \\ | \\ CH^2 - CH(NH^2) - CO.OH \end{array}}$. $= (C^5H^9NO^4)$

e) Di un corpo nuovo, la **tiroleucina,** $C^{14}H^{22}N^2O^4$; di tracce di acido lattico e succinico; di una piccola quantità di sostanze ternarie neutre analoghe alla destrina (fatto di un'alta importanza fisiologica).

§ 13. Sulla base di queste sue ricerche, SCHUETZENBERGER tenta poi di ricostruire la molecola proteica, ammettendo che l'albumina coagulata sia un miscuglio di più principii immediati molto vicini, non differenti nella loro struttura che per particolari affatto accessori. Si potrebbe infatti pensare che una proteina desse della tirosina, mentre in un'altra questo gruppo sarebbe sostituito da una quantità equivalente di leucina. Egli dà dunque la seguente formola di struttura, dalla quale è escluso lo S, come quella che risponde a tutte le condizioni precedentemente stabilite nelle analisi:

$$
\begin{array}{l}
C^2O^2 \left\langle \begin{array}{l}
N \left\langle \begin{array}{l} CO.C^5H^{10}.NH \times C^2H^4.NH.C^2H^4.CO.OH \\ CO.C^4H^8.NH \times CH^2.N.C^2H^4.CO \end{array} \right. \\
N \left\langle \begin{array}{l} CO.CH^3 \\ CO \end{array} \right\rangle C^7H^{12} \left\langle \begin{array}{l} NH \times CH^2.NH.C^2H^3.CO.OH \\ NH \times CH^2.NH.C^2H^3.CO.OH \end{array} \right. \\
N \left\langle \begin{array}{l} CO \\ H \end{array} \right\rangle \\
CO \left\langle \begin{array}{l}
N \left\langle \begin{array}{l} CO.C^3H^6.NH \times C^2H^4.N.C^2H^4.CO \\ CO.C^4H^8.NH \times CH^2.NH.C^2H^4.CO.OH \end{array} \right.
\end{array} \right.
\end{array}
$$

$$= C^{60}H^{100}N^{16}O^{20}.$$

(Peso molecolare . . . . 1364).

SCHUETZENBERGER considera questa molecola come un **ureide complesso,** un **diureide,** che fornirebbe per sdoppiamento 2 molecole di urea, dell'acido acetico e un miscuglio d'acidi amidati.

Verisimilmente, l'N si trova, secondo SCHUETZENBERGER, nella molecola proteica allo stato di imide (NH), e passerebbe allo stato di amide (NH^2) nei prodotti di scomposizione di essa, durante l'assunzione di acqua. Abbiamo visto però che, secondo le ricerche più recenti di U. SCHIFF, i gruppi (almeno due) amidici debbono preesistere nella molecola proteica.

GAUTIER, invece, pensa che in ogni corpo proteico, come nella maggior parte dei composti naturali del gruppo urico, esiste un nucleo centrale costituito da un gruppo derivato dall'acido cianidrico (CNH), non saturato, formato dall'unione di tre molecole di quest'acido, aventi ciascuna la seguente costituzione:

(gruppo tetratomico) (gruppo diatomico).

GAUTIER ha infatti mostrato l'ufficio importante che ha il gruppo cianico (CN) nella trasformazione e sintesi dei composti organici naturali, i quali hanno una grande tendenza a polimerizzarsi, per la presenza dello stesso gruppo cianico. Questa teoria ha ricevuto una confermazione nella scoperta che fece KOSSEL d'un polimero dell'CNH, qual'è l'**adenina** ($C^5N^5H^5$).

§ 14. Ma ciò ci conduce direttamente alla **sintesi proteica operata dai vegetali.**

È ormai stabilito che le piante fissano l'N sia sotto forma di nitrati, sia sotto forma di sali ammoniacali e di N libero (in molto minor proporzione). Da questi materiali azotati, la cellula vegetale fabbrica la sostanza proteica, secondo GAUTIER, nel seguente modo (1872 e 1884):

I nitrati, debolmente dissociati da un'estrema diluzione e dall'acidità dei succhi vegetali, sono ridotti nel protoplasma cellulare dalla protofillina, dall'aldeide metilica e dal glicosio allo stato nascente. che incessantemente si formano in esso. Durante quest'energica riduzione dei nitrati comparisce HCN, il quale, non potendo rimaner libero, si lega alle aldeidi che incessantemente si formano nel protoplasma clorofillico. Ora noi sappiamo dalle ricerche di SCHUETZENBERGER che la molecola proteica è essenzialmente formata dai gruppi dell'urea e dell'ossamide, i cui idrogeni sono stati totalmente o in parte sostituiti da radicali complessi, formandosi catene come questa:

$$CO - CH^2 - CH^2 - \overset{|}{CH} - NH - CH^2 - \overset{|}{CH} - NH - CH^2 - COOH.$$

In questa catena si vede comparire più volte il radicale CH^2 dell'aldeide formica CH^2O; e i gruppi CH^2 sono legati fra loro dal gruppo $\overset{|}{CH} - NH$, che si ricollega all'acido cianidrico, da cui non differisce che per un H.

Rammentando che nella foglia l'aldeide formica si produce incessantemente, ch'essa viene a trovarsi in presenza del gruppo HCN

nascente, il quale è dotato della proprietà di unirsi a freddo alle aldeidi facilmente, si comprenderà come possano formarsi delle catene composte unicamente da questi due primi fattori HCN e COH^2:

$$\equiv C-NH-\underset{\underset{OH}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underset{\underset{OH}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underset{|}{C}-NH-\underset{\underset{OH}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-\underset{\underset{OH}{|}}{\overset{\overset{H}{|}}{C}}-NH-\underset{|}{C}-C=NH,$$

di cui il primo e l'ultimo anello C, NH possono facilmente trasformarsi in CO e COOH, secondo il modo d'idratazione classico dell'HCN; mentre gli altri gruppi $\overset{\overset{H}{|}}{\underset{\underset{OH}{|}}{C}}$ (aldeide metilica o isomero) e HCN (gruppo cianidrico), possono anche facilmente trasformarsi in

$$-\overset{\overset{H}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}- \text{ e in } \overset{\overset{H}{|}}{\underset{\underset{H}{|}}{C}}-N-.$$

L'H a ciò necessario è fornito dalla reazione:

$$\underset{\text{(aldeide formica)}}{\underline{CH^2O}} + H^2O = \underset{\text{(acido formico)}}{\underline{CO^2H^2}} + H^2.$$

A spiegare la formazione dei gruppi dell'urea e dell'oxamide:

$$CO\begin{cases}N\\N\end{cases} \quad \text{e} \quad \begin{matrix}CO-N\\ |\\ CO-N\end{matrix}\begin{cases}\\ \\ \end{cases},$$

basti ricordare che, secondo esperienze di GAUTIER, l'acido cianidrico dà anche dell'urea e dell'aldeide metilica per idratazione:

$$2\,HCN + 2\,H^2O = CON^2H^4 + COH^2.$$

Per semplicità, si può scrivere l'insieme di tutte queste reazioni in due equazioni in cui non entrano che i fattori primitivi che si producono nella foglia: l'aldeide formica, l'HCN e l'H^2O:

1) $$\underset{\text{(ald. formica)}}{\underline{21\,CH^2O}} + 21\,H^2O = \underset{\text{(ac. formico)}}{\underline{21\,CO^2H^2}} + 21\,H^2$$

2) $$45\,CH^2O + 17\,CNH + 21\,H^2 = \underset{\text{(albumina)}}{\underline{C^{62}H^{103}N^{17}O^{22}}} + 23\,H^2O;$$

o insieme:

$$66\,CH^2O + 17\,CNH = C^{62}H^{103}N^{17}O^{22} + 21\,CH^2O^2 + 2\,H^2O.$$

Vi sono dei fatti che appoggiano questa ipotesi di GAUTIER:

1. L'HCN in presenza di H^2O e di acidi deboli dà alcuni dei derivati diretti e complessi delle sostanze proteiche: la xantina, la sarcina, la metilxantina, la guanidina (GAUTIER).

2. Dall'azione dell'HCN su alcuni corpi aldeidici (glicosio) si formano delle **cianidrine**, che, per idratazione, dànno il **lattone levulosocarbonico** $C^7 H^{12} O^7$, gli acidi ossipimelico e arabinosocarbonico, ecc.

3. Finalmente anche le notevoli sintesi che sono state fatte associando l'HCN con l'acetilene e con le aldeidi degli alcooli non saturati, ovvero riducendo i composti nitrati in presenza di glicerina e di agenti disidratanti, testimoniano la potenza e la generalità di questo modo di sintesi dei corpi azotati; oltre alle indagini, citate sopra, sulla composizione della **adenina** ($C^5 H^5 N^5$).

§ 15. **Gruppi atomici contenuti nella molecola proteica.** — DANILEWSKY, che dice l'albumina essere la combinazione organica più complessa fra tutte quelle che esistono sulla terra, la considera anche come un complesso chimico intimo, formato di gruppi atomici, che, per decomposizione della molecola proteica, appariscono nella maggior parte dei casi sotto forma di corpi organici indipendenti, evidentemente meno complessi della sostanza madre. Egli distingue **sei** categorie di gruppi:

a) I **gruppi atomici della serie grassa,** costituiti dagli acidi grassi, dagli acidi amidati, e da altre sostanze, fra le quali pone anche la glicerina.

b) I **gruppi carboidrati.** Quelli contenuti nelle sostanze proteiche si presentano o sotto la forma CHOH o sotto quella di H. COH (aldeide formica), o finalmente come CH^2. Si è constatato infatti che sotto l'influenza dell'idrato di bario le sostanze proteiche si scompongono in derivati amidati degli acidi grassi, analoghi all'acido lattico. Vi si è constata la presenza anche dell'alanina, isomerica con la lattamide. Come si sa, una scomposizione analoga subiscono gli idrati di carbonio sotto l'azione della KOH: si forma, cioè, acido lattico, nella proporzione di circa 70-80 $^0/_0$. Inoltre, come prova dell'esistenza di questi gruppi nella molecola proteica, può valere, non solamente la formazione di glicogene nell'organismo vivente, ma anche il fatto che fra i prodotti d'idratazione delle sostanze proteiche che nascono sotto l'azione degli acidi minerali e dell'idrato di bario, ne figurano alcuni aventi la più grande analogia col glicosio e con la destrina.

c) I **gruppi racchiudenti un nucleo aromatico,** che servono di punto di partenza alla formazione della tirosina, dell'acido benzoico, dell'indolo e di altri derivati del benzolo. Abbiamo visto che fra i prodotti di sdoppiamento delle sostanze proteiche trovasi la tirosina ($C^9 H^{11} NO^3$), un corpo corrispondente alla costituzione dell'acido amidoidrocumarico, caratterizzato dal gruppo aromatico $C^6 H^4$. Inoltre sappiamo che i corpi proteici dànno, scomponendosi, basi piridiche e idropiridiche, fenolo, indolo, scatolo, ecc.

Sempre dunque noi incontriamo derivati aromatici come prodotti di scomposizione delle sostanze proteiche, comunque essa sia operata.

d) I **gruppi racchiudenti i nuclei della piridina e della chinolina,** i quali dànno alle sostanze proteiche la proprietà di produrre tutta la serie delle reazioni dette alcaloidee.

e) I gruppi che dànno luogo alla formazione dei fermenti chimici o enzimi, che caratterizzano tanto specialmente la vita del protoplasma.

I fermenti amorfi sarebbero dunque, secondo DANILEWSKY, costituiti da gruppi atomici che, in certe circostanze, si separerebbero dalla molecola proteica.

f) Infine, egli dice, la sesta categoria di gruppi non si presenta, nè fuori nè dentro l'organismo, sotto forma di combinazioni chimiche distinte e indipendenti. Questa categoria è assai ricca in N, e il carattere del legame esistente fra gli atomi di N e quelli di C è tale, che questo gruppo atomico può facilmente passare dallo stato anidro allo stato idrato, anche un numero ripetuto di volte, senza che si verifichi la minima alterazione nell'entità della molecola proteica.

Riassumendo, la molecola proteica sembra costituita da tre gruppi principali: uno azotato, sia esso l'**urea**

$$CO\begin{cases} NH^2 \\ NH^2 \end{cases},$$

o un gruppo ancora più elementare, il gruppo **cianidrico** HCN; un altro carboidrato H. COH (o grasso CH^2), e uno aromatico $C^6 H^4$. A questi gruppi fondamentali se ne aggiungerebbero poi altri accessori di diversa natura.

Ma queste differenti serie o frazioni di gruppi, che esistono nella molecola in numero variabile, ripetute una o più volte, non formano un'agglomerazione meccanica nella molecola proteica, ma hanno la facoltà di unirsi, di saldarsi chimicamente in una catena di serie fortemente coerenti le une alle altre, in una unità intima e complessa.

È evidente che più serie omonime si trovano nella molecola proteica, e più questa riproduce chiaramente le qualità di queste serie. Per esempio: la **cheratina** presenta un aumento di **serie aromatiche,** mentre nell'**elastina** troviamo una predominanza delle serie **leuciniche,** e il **glutine** ci mostra prevalenza di serie **gliciniche,** ecc. D'altra parte il **collagene** manca affatto di **serie aromatiche,** e così via.

Appoggiandosi sopra questi fatti, bisogna ammettere il grande ufficio biologico delle dette serie di gruppi atomici, che l'analisi dei prodotti di scomposizione delle sostanze proteiche ci ha rivelato.

Le serie aromatiche contribuiscono — secondo DANILEWSKY — alla resistenza e alla durezza della sostanza; le serie leuciniche le conferiscono resistenza ed elasticità; le serie gliciniche procurano un aspetto gelatinoso e una grande proprietà d'imbibizione; le serie glutamiche contribuiscono alla solubilità della sostanza, ecc. Tuttavia,

è necessario anche ammettere che un considerevole accumulo di serie omonime deve dare alla sostanza proteica un carattere nettamente definito, limitare l'estensione della sua funzione biologica e fissare al suo ufficio fisiologico dei limiti più angusti, specializzandola, differenziandola. Ecco perchè le sostanze albuminoidi, che non debbono essere considerate come semplici parti distaccatesi dalla molecola proteica originaria, ma come corpi caratterizzati dalla prevalenza di alcune serie, non servono come materiali di formazione di un complesso protoplasmatico vivente, che deve avere per base una molecola proteica contenente **tutti** i gruppi atomici propri della sostanza proteica, in generale, e distribuiti inoltre in modo più eguale: esse sono troppo specializzate.

Secondo DANILEWSKY, la molecola proteica ha subìto un vero sviluppo filogenetico, e le differenze esistenti fra le sostanze proteiche degli organismi inferiori o primitivi e quelle dei superiori non consistono solamente nel fatto che le prime mancano di alcune serie di gruppi atomici speciali, ma anche in una costruzione secondo un tipo differente. La causa principale dello sviluppo risiederebbe nella facoltà della molecola proteica di adattarsi passivamente alle condizioni esteriori dell'ambiente, per cui sostanze o gruppi atomici da prima estranei, dopo che per un tempo incalcolabile sono venuti continuamente a contatto con la molecola proteica, finiscono per incorporarsi definitivamente e stabilmente in essa, contribuendo alla formazione complessiva del suo edificio, e per divenire ad essa indispensabili.

Così le serie aromatiche mancano — secondo DANILEWSKY — alle sostanze proteiche degli organismi primitivi e inferiori; ma nelle proteine dei protoplasmi superiori esse sono entrate a farne parte talmente importante, che non si potrebbe più ora sostenere in vita un animale solo con proteine prive dei gruppi aromatici.

Allo stesso modo, l'ingresso del P nella molecola proteica rappresenta senza dubbio un'evoluzione, ed ora esso è talmente indispensabile, che l'alimentazione prolungata con proteine non fosforate sarebbe insopportabile.

In breve, la molecola della proteina non s'è costituita d'un tratto, tal quale noi l'incontriamo oggidì nel protoplasma degli animali superiori. DANILEWSKY considera come molto probabile l'ipotesi, che l'accomodazione, cui accennammo sopra, consiste nell'ammissione di sostanze tossiche prima nel complesso protoplasmatico (globulinico dell'A.) e in seguito nella stessa molecola proteica. I protoplasmi viventi non possono comportarsi indifferentemente in presenza dei gruppi atomici tossici, se non quando essi fanno parte integrante del loro complesso. In simili casi le funzioni molecolari del complesso protoplasmatico e proteico divengono isotoniche, omogenee con quelle

della sostanza tossica, e quest'ultima non può provocare alcuna perturbazione nel detto complesso, come non ne provoca nelle molecole aventi la sua stessa natura.

A noi sembra però necessario aggiungere qui che anche la quantità della sostanza tossica con cui il protoplasma viene a contatto deve avere una grande importanza, altrimenti non potremmo spiegarci perchè, per esempio, i sali potassici che pur entrano, a preferenza dei sali sodici, nel complesso molecolare proteico, sono, in quantità eguale, più tossici di questi.

Lo stesso vale evidentemente, ammessa l'ipotesi di DANILEWSKY, per alcuni altri elementi che successivamente sono stati incorporati, come il P, nella molecola proteica; per esempio, per il Fe, per il Ca, ecc.; e, forse, in un'epoca a venire, più o meno lontana, la stessa sorte subiranno il gruppo alcoolico, l'As, ecc., che ora per la massima parte dei protoplasmi normali viventi sono dei veleni.

Chi può dirci, finalmente, che le condizioni di differente stabilità in cui si trovano gli altri elementi della molecola proteica non siano un indizio vago del loro vario ingresso, della loro varia fissazione, nel corso del tempo?

§ 16. **Stato dell'N e dello S nella molecola proteica.** — Noi abbiamo visto che una parte dell'N è debolmente legata nella molecola proteica, onde facilmente se ne distacca in forma di NH^3, sotto l'azione degli alcali (NASSE). O. NASSE affermò che la parte labilmente combinata dell'N si trova nella molecola proteica in forma di amide e ancora in uno stato simile a quello dell'N della creatina, mentre la parte stabilmente combinata si troverebbe allo stato di acidi amidati.

Lo stesso si verifica per lo S (FLEITMANN, 1848) di cui una parte si distacca bollendo le sostanze proteiche con KOH o Na OH, in forma di solfuro alcalino, e può essere messa in evidenza mediante l'acetato di piombo, mentre la rimanente parte si può dimostrarla solo fondendo la sostanza con salnitro e potassa caustica.

La molecola proteica deve per ciò contenere almeno due atomi di S.

Non ostante però le ricerche di parecchi autori e più recentemente di KRUEGER, non si è riusciti ancora a stabilire in quali gruppi atomici le due parti di S si trovino incorporate. Si può solo dire che probabilmente il S labile si trova in un complesso atomico non facilmente ossidabile, essendo legato da una parte al C e dall'altra all'H, così:

$$= C - S - H.$$

Da questo gruppo atomico contenente il S labilmente combinato deriverebbe la cisteina, non facilmente ossidabile; ma, secondo NEUMEISTER, dal gruppo contenente il S labile si formerebbero altre combinazioni intermedie più facilmente ossidabili della cisteina.

Si sa inoltre che il rapporto del S totale al S labilmente combinato è nell'ovalbumina come 4 : 1, nella fibrina come 3 : 1 (KRUEGER), nel peptone come 2 : 1, nella sostanza cornea delle penne come 2 : 1 (SUTER).

Interessanti sono per ora i resultati ottenuti dal MALERBA. Egli ha dimostrato che, mentre tutte le sostanze proteiche contengono lo S stabilmente combinato, lo S labilmente combinato si trova solamente in alcune (glutine, ovalbumina, sieralbumina, fibrina, peptone, cheratina), e in altre no (caseina, miosina, gelatina, condrina, nucleina, globulina). Si consideri ora che le sostanze non contenenti il S labile sarebbero, in generale, quelle che rappresentano il prodotto della elaborazione cellulare, che fanno parte cioè del complesso protoplasmatico o nucleare della cellula, mentre le proteine circolanti contengono tutte il S labile. Ciò farebbe pensare, secondo il MALERBA, che da queste ultime, nell'essere assimilate ed elaborate dagli elementi cellulari, si staccasse quella catena laterale contenente il S labile.

Da altre più recenti ricerche dello stesso MALERBA risulta che l'ovalbumina e la caseina, due alimenti proteici così comunemente usati, decomponendosi ed ossidandosi nell'organismo, dànno press'a poco la stessa quantità di S ossidato e di S neutro, malgrado che quella contenga nella sua molecola tanto S stabile che S labile e questa solamente S stabilmente combinato. Infatti l'A. ha trovato che l'ovalbumina rende il 74 % di S ossidato e il 26 % circa di S neutro, e la caseina il 76 % di S ossidato e il 30 % di S neutro. Ora. se la caseina, la quale contiene soltanto solto stabile, dà una data proporzione di S neutro, circa la terza parte, v'ha ragione di ritenere che questo S non ossidato provenga da S stabile.

Questo fatto autorizza ad ammettere che anche il S neutro proveniente dalla decomposizione dell'ovalbumina e che rappresenta, come per la caseina, press'a poco la terza parte di tutto lo S stabilmente combinato, appartenga precisamente a quest'ultimo e, per conseguenza, può ammettersi, con tutta probabilità, che il S labile dell'ovalbumina venga ossidato nell'organismo, giacchè più dei due terzi del S totale di questa sostanza proteica viene eliminato allo stato ossidato. Questa veduta viene confermata dall'esperienza della circolazione artificiale nel fegato, dove pare che quel gruppo, a cui appartiene il S labile del peptone, venga ossidato e forse, dopo l'ossidazione, distaccato dal resto della molecola, poichè non si riesce a dimostrare, con la soluzione alcalina di sale di piombo, la presenza dello S labilmente combinato nel peptone che abbia circolato insieme col sangue ossigenato nel fegato sopravvivente.

SUTER è venuto recentemente alla conclusione che, studiando il modo di comportarsi delle sostanze proteiche all'azione di una solu-

zione alcalina di acetato di Pb, si trae la convinzione che in esse si trova una combinazione contenente S la quale si comporta come la cistina. BAUMANN pensa che i derivati diretti della molecola proteica contenenti S risultano probabilmente da una o più combinazioni, contenenti N, e che posseggono proprietà fortemente acide. Se così fosse, l'acido aspartico solforato:

$$\begin{array}{l} CH^2 - COOH \\ | \\ C \begin{cases} SH \\ NH^2 - COOH \end{cases} \end{array}$$

potrebbe essere considerato come quella sostanza destinata poi a generare la cistina, la cisteina, gli acidi mercapturici, l'acido tiolattico e il solfuro di etile, tutte sostanze contenenti il S proteico, ma che per affermazione dei più autorevoli (KRUEGER, SUTER, BAUMANN) non sono prodotti solforosi immediati della scomposizione della molecola proteica.

SUTER ha trovato come prodotto di scomposizione delle sostanze cornee l'acido tiolattico, il quale non deve essere considerato come un prodotto primario. BAUMANN ha fatto poi vedere i rapporti esistenti tra la cisteina e l'acido tiolattico, rapporti che somigliano a quelli esistenti fra tirosina e acido idroparacumarico:

$$\underbrace{C^6 H^4 \begin{cases} OH \\ CH^2 - CH \begin{cases} NH^2 \\ COOH \end{cases} \end{cases}}_{\text{(tirosina)}} + H^2 = \underbrace{C^6 H^4 \begin{cases} OH \\ CH^2 - CH^2 - COOH \end{cases}}_{\text{(acido idroparacumarico)}} + NH^3$$

e

$$\underbrace{\begin{array}{c} NH^2 \quad\quad CH^3 \\ \diagdown \quad \diagup \\ C \\ \diagup \quad \diagdown \\ HS \quad\quad COOH \end{array}}_{\text{(cisteina)}} + H^2 = \underbrace{CH^3 - CH\,(SH) - COOH}_{\text{(acido tiolattico)}} + NH^3.$$

§ 17. Ma quando i chimici vogliono conoscere l'intima costituzione di un corpo, non solamente lo studiano nei suoi prodotti di scomposizione, ma tentano anche di farne artificialmente la sintesi. Ciò è stato anche tentato per le sostanze proteiche, ma con esito molto infelice. Tuttavia noi accenneremo ai resultati ottenuti, dopo aver accennato di volo alla sintesi naturale delle sostanze proteiche, quella, cioè, che avviene nei vegetali.

SCHUETZENBERGER, considerando la molecola proteica come risultante dall'unione (con perdita d'H^2O) dell'urea (o dell'ossamide) con la leucina e le leuceine, ha fatto prima la sintesi delle leuceine scaldando in tubi chiusi a 160° C. e facendo agire i bromuri etilenici sulle combinazioni zinciche degli acidi grassi amidati: $C^n H^{2n+1} NO^2$ (alanina, glicocolla), e poi, mescolando delle leucine e delle leuceine

con 10 % d'urea e, disidratando il miscuglio con P^2O^5 a 125° C., ha ottenuto un corpo amorfo, solubile in acqua, precipitabile dall'alcool in grumi bianchi e caseosi e anche dall'$HgCl^2$, dal reattivo di MILLON, dagli acidi fosfotungstenico e fosfomolibdenico, e somigliante molto ai peptoni. Esso presenta infatti la maggior parte delle reazioni dei peptoni (reazione del biureto, xantoproteica), e, calcinato, sviluppa l'odore caratteristico di corno bruciato.

GRIMAUX, scaldando alla temperatura di 125°-130° C., per due ore, l'anidride dell'acido aspartico con la metà in peso di urea, ha ottenuto una sostanza, avente i caratteri generali delle sostanze proteiche e la seguente formola:

$$C^{34}H^{40}N^{10}O^2S.$$

Egli ha ottenuto anche un colloide amidobenzoico molto interessante, scaldando l'acido amidobenzoico, per un'ora, con una volta e mezzo il suo peso di percloruro di fosforo, e trattando la massa con acqua bollente fino a che il residuo insolubile presentasse l'aspetto d'una polvere bianca e friabile, che si scioglie intieramente a caldo nell'ammoniaca. La soluzione ottenuta, evaporata e disseccata, dà delle scaglie giallastre translucide aventi una grande rassomiglianza con la sieralbumina disseccata. Le reazioni generali di questa sostanza sono affatto comparabili a quelle che dànno le sostanze proteiche.

Ipotesi più o meno ingegnose sono state fatte allo scopo di chiarire la genesi della proteina vivente e la differenza, da tutti ammessa, fra proteina morta e proteina vivente, da PFLUEGER, LOEW, LATHAM, DANILEWSKY, ecc.; ma crediamo più opportuno trattarne quando ci occuperemo del protoplasma cellulare.

§ 18. **Reazioni colorate delle sostanze proteiche.** — La particolare importanza di queste reazioni consiste nel fatto che un numero considerevole di gruppi atomici delle sostanze proteiche presentano le medesime reazioni caratteristiche, come se fossero allo stato libero; onde la proprietà di questa o quella sostanza di dare l'una o l'altra reazione indica la presenza del gruppo atomico corrispondente nella molecola proteica. Per quanto si riferisce più specialmente alle reazioni colorate delle sostanze proteiche, è bene qui ricordare che, secondo SALKOWSKI, una parte della molecola proteica risulta dalla combinazione di radicali aromatici, cui sono dovute le principali loro reazioni colorate. Questi radicali appartengono: 1.° al gruppo del fenolo, che comprende la tirosina, gli idrossiacidi aromatici, il fenolo e il cresolo; 2.° al gruppo del fenile, che comprende gli acidi fenilacetico e fenilpropionico; 3.° al gruppo dell'indolo, che comprende l'indolo, lo scatolo e l'acido scatolcarbossilico.

Le principali reazioni colorate delle sostanze proteiche sono le seguenti:

1. **Reazione xantoproteica.** — Una soluzione o un blocchetto di sostanza proteica, trattati con HNO^3 forte, dànno un bel colore giallo, scaldando; il colore giallo passa in arancione, aggiungendo dell'NH^3, dopo il raffreddamento. Questa reazione dipende dalla formazione di nitroderivati; è data dalle sostanze del primo e del terzo gruppo (meno evidente) di SALKOWSKI (oltre che dalla leucina), ma non dalle sostanze del secondo gruppo. Anche PICKERING ammette come probabile che questa reazione delle sostanze proteiche e dell'**acido colalico** dipenda dall'esistenza di un nucleo idrobenzolico.

2. **Reazione di Millon.** — Se a una soluzione proteica si aggiungono poche gocce di reattivo di MILLON, si osserva formarsi un precipitato bianco-grigiastro, che, scaldando, assume un colore rosso-mattone. In presenza di Na Cl, o di altri cloruri in eccesso, la reazione non ha luogo. Il reattivo di MILLON precipita anche molti sali inorganici, che però non diventano rossi al calore. La reazione è dovuta al gruppo aromatico della molecola proteica (infatti la dà bellissima il fenolo), e più specialmente, secondo KUEHNE, alla tirosina, come è dimostrato dal fatto che gli antiproteosi e gli antipeptoni, che non dànno come ulteriori prodotti di scomposizione nè leucina, nè tirosina, non dànno nemmeno la reazione del biureto (KUEHNE e CHITTENDEN). O. NASSE crede che questa dipenda da quei benzolderivati, in cui un solo atomo d'H è sostituito da un OH. SALKOWSKI confermò l'asserzione di KUEHNE, e aggiunse che la gelatina non dà la reazione di MILLON. Ma CHITTENDEN e SOLLEY hanno recentemente trovato che i prodotti della digestione della gelatina corrispondenti all'antialbumide dànno una caratteristica reazione di MILLON. Del resto lo stesso MILLON nella sua memoria originale (1849) dice che la gelatina dà anche la sua reazione, e recentemente PICKERING ha trovato che la dànno, non solamente la gelatina pura, ma anche i gelatinosi in modo evidente. Così che, in conclusione, bisogna ammettere che questa reazione è data anche dagli albuminoidi, dai quali non si può ottenere in nessun modo della tirosina.

Finalmente, PICKERING ha potuto confermare l'opinione di NASSE, che cioè i prodotti di decomposizione e corpi affini contenenti un idrossile in un nucleo benzolico dànno senza eccezione la reazione di MILLON. Le opinioni di KUEHNE e di NASSE possono però essere conciliate, ammettendo che la stessa tirosina debba la sua reazione al nucleo idrobenzolico che contiene, poichè del resto gli amidoacidi per sè stessi non la dànno. La gelatina, benchè non contenga della tirosina, potrebbe dunque contenere un nucleo idrobenzolico, donde la sua reazione (PICKERING).

Preparazione del reattivo di Millon. — Per preparare il reattivo di MILLON si mescola una parte in peso di Hg puro e due parti in

peso di HNO^3 forte, del peso specifico 1,42; si lascia così un certo tempo a freddo, e poi si scalda leggermente finchè il Hg si sia completamente sciolto. La soluzione così ottenuta viene diluita con un doppio volume di H^2O, per cui si forma un copioso precipitato, che si lascia depositare. Si decanta il liquido chiaro soprastante, che è il reattivo di MILLON.

3. **Reazione di Adamkiewiecz.** — Se ad una soluzione di albumina o a un piccolo blocco di proteina coagulata si aggiunge un miscuglio di acido acetico glaciale (2 vol.) e di H^2SO^4 concentrato (1 vol.), si osserva un bel colore rosso-violetto, che presenta una leggiera fluorescenza, e comparisce lentamente alla temperatura ordinaria, rapidamente scaldando.

La gelatina non dà questa reazione; i peptoni la dànno solo in soluzione concentrata. La reazione sembra dovuta ai gruppi indolico e scatolico della molecola proteica, vale a dire alle sostanze del terzo gruppo di SALKOWSKI. L'aggiunta di una piccolissima quantità di KNO^2 rende più intensa la colorazione. PICKERING ha confermato l'asserzione di SALKOWSKI.

4. **Reazione di Liebermann-Würster.** — Aggiungendo a una soluzione proteica dell'HCl concentrato e poi una goccia di H^2SO^4 concentrato, e scaldando, si osserva un bel colore violetto cupo. È bene estrarre prima l'albumina, precipitata con alcool, con alcool ed etere.

La emoglobina, la condrina, la cheratina e certe mucine non dànno questa reazione, che non è dovuta ad alcuno dei gruppi di SALKOWSKI. Non la dànno nemmeno il peptone puro (LE NOBEL), i corpi ureidi che nascono come prodotti catabolici delle sostanze proteiche, la tirosina, la leucina, il fenolo, lo scatolo, ecc.

5. **Reazione di Piotrowsky.** — Se ad una soluzione proteica si aggiunge una goccia di soluzione diluita di $CuSO^4$, si ottiene un precipitato di albuminato di rame. Aggiungendo ora KOH o NaOH in eccesso, il precipitato si ridiscioglie e si ha un bel colore violetto: aggiungendo invece dell'NH^3, si ha un colore bleu.

WIEDEMANN poi trovò che con questi reagenti il biureto dà una colorazione rosso-rosa, onde la detta reazione prese il nome di **reazione del biureto** (ved. in seguito).

6. **Reazione di Raspail.** — Le sostanze proteiche, trattate con H^2SO^4 concentrato e una piccola quantità di soluzione concentrata di saccarosio, dànno un bel colore rosso. La reazione è dovuta alla formazione di furfurolo, che può essere messo in evidenza mediante la colorazione della carta all'acetato di xilidina. La tirosina, il fenolo, l'α-naftolo, il timolo, la vanillina, la salicina, ecc., certi grassi e olii danno anche la stessa reazione.

7. **Reazione del biureto.** — Se ad una soluzione proteica si ag-

giunge un volume eguale di soluzione di KOH o Na OH e poi a goccie della soluzione diluita (2 %) di $CuSO^4$, il liquido si tinge in un bel colore rosso-violetto prima e da ultimo in violetto-bleu.

I proteosi e i peptoni si tingono invece in colore rosso-rosa o rosso-porpora (BRUECKE). La reazione va eseguita con molta cura. Non si deve mai aggiungere troppo $CuSO^4$, perchè il suo stesso colore maschera, altrimenti, la reazione vera. Inoltre, poichè accade di solito di dover fare questa reazione in presenza di un eccesso di sali neutri, è bene avvertire che, se nel liquido si trova $MgSO^4$, la KOH o Na OH produce un abbondante precipitato di idrato di magnesio, e bisogna aspettare che esso si depositi, prima di giudicare intorno alla reazione; che il Na Cl non disturba la reazione; che se invece vi si trova molto $(NH^4)^2SO^4$, bisogna aggiungere una quantità maggiore (magari in sostanza) di KOH o Na OH, perchè il colore caratteristico apparisca.

Questa reazione è sostanzialmente identica a quella di PIOTROWSKY. Essa è data genuinamente dal biureto ($C^2H^5N^3O^2$) o

$$\begin{array}{l} CO\begin{cases} NH^2 \\ NH \end{cases} \\ CO\begin{cases} \\ NH^2 \end{cases} \end{array},$$

una sostanza che si forma o scaldando dell'urea a 150°-170° C, o trattando l'urea ben secca con gas cloridrico secco alla temperatura di 130° C.; onde la reazione data dalle sostanze proteiche si credette esclusivamente dovuta alla presenza di questo gruppo. È data anche dall'acido cianurico e urico, dalla xantina, dall'ipoxantina, dalla sarcosina, dall'acido cianidrico. L'acido cianurico dà la reazione delle proteine, l'acido cianidrico quella dei proteosi e dei peptoni. GNEZDA per ciò pensa che la reazione del biureto sia data da un radicale cianico, che sarebbe contenuto in forma diversa nelle proteine e nei peptoni, corrispondentemente alla differenza esistente fra l'acido cianurico e cianidrico, e che essa ha nulla da fare coi radicali aromatici della molecola proteica.

Il composto che si forma nella così detta reazione del biureto, in cui per altro non entra l'acido del sale ramico adoperato, è il **biureto cupro-potassico.**

L'unico metallo i cui sali mostrino un modo perfettamente analogo di comportamento coi sali ramici è il nichelio (GNEZDA 1889, U. SCHIFF), con la differenza che nei casi in cui il rame dà composti colorati in rosso o in violetto, il nichelio dà derivati colorati in arancio o in giallo. Inoltre $NiSO^4$ e NH^3 non dànno alcuna reazione con le proteine, e dànno una colorazione gialla con i proteosi e i peptoni; mentre $CuSO^4$ e NH^3 dànno con le proteine una colorazione bleu, e dànno una colorazione rosso-violetta con i

proteosi e coi peptoni (GNEZDA). I composti doppi del biureto coi sali di nichelio, di cui SCHIFF analizzò

$$Ni\,SO^4, 2\,C^2\,H^5\,N^3\,O^2 \text{ e}$$
$$Ni\,Cl^2, 2\,C^2\,H^5\,N^3\,O^2,$$

sono sostanze cristalline di colore verde pallido, le quali con acqua calda si decompongono più facilmente dei corrispondenti composti del rame. I sali di cobalto si combinano egualmente col biureto (SCHIFF), ma con gli alcali non si ha alcuna reazione paragonabile con quella dei composti ramici o nichelici.

In conclusione se si sostituisce, nella così detta reazione biuretica delle sostanze proteiche, il sale di rame con un sale di nichelio, si ottengono parimenti dei composti colorati, dal giallo all'arancione: come col biureto, si possono ottenere anche con le sostanze proteiche le colorazioni caratteristiche violetta o giallo-oscura per mezzo degli idrati di rame o di nichelio (SCHIFF).

La reazione del biureto non è esclusiva di questo corpo e delle sostanze proteiche. Perchè si produca sono necessari, secondo SCHIFF, almeno due gruppi ($-CO-NH^2$), che nella molecola siano legati ad un unico atomo di C o di N, ovvero ad uno o più gruppi ($-CO-NH-$) riuniti in catena aperta. Corpi che dànno la detta reazione sono i seguenti: ossamide, idrossilossamide, tiobiureto, diamide malonica, diamide tartronica, ossoluramide, ossalildiurea. Da ciò deriva che non è più necessario ammettere che i corpi proteici contengano gruppi biuretici, bastando la presenza di gruppi guanidinici o ossamidici, ecc. perchè la reazione si verifichi.

Lo SCHIFF crede di poter ammettere che nella molecola proteica debbano esistere **almeno due** gruppi amidici liberi, cioè non sostituiti, i quali, insieme con i gruppi $CO-$, $CS-$ o $C=NH$ correlativi, siano legati, non ad un nucleo chiuso di atomi di carbonio, ma ad un unico atomo di carbonio, o di azoto, ovvero ad una catena aperta di gruppi amidocarbonili. Il gruppo che dà la reazione biuretica nei corpi proteici indecomposti sarebbe quindi indipendente da quello, che per decomposizione di questi corpi si libera in forma di tirosina (SCHIFF).

Fu però PFLUEGER il primo (1875) ad ammettere che le proteine morte contengono il radicale amidogene NH^2, che si cambierebbe nel radicale cianogene CN nella proteina vivente (ved. LA CELLULA).

PICKERING, nel laboratorio di HALLIBURTON, ha trovato, completando le osservazioni di SCHIFF, che i sali di cobalto (solfato), che nella classificazione di MENDELEEFF è il metallo più vicino al nichelio, in soluzione diluita, dànno con le sostanze proteiche e albuminoidi reazioni più distinte di quelle date dai sali di nichelio e di rame; mentre i sali di ferro, di manganese e di zinco, che sono

anche prossimi ai primi nella serie periodica, non dànno reazioni proteiche distinte. Si deve per ciò ritenere che le **reazioni colorate delle sostanze proteiche non sono una funzione della legge periodica degli elementi.**

Ecco in forma schematica le reazioni ottenute da PICKERING, con varie sostanze proteiche:

Sostanze proteiche	+ $CoSO^4$	+ $CoSO^4$ + NH^3	+ $CoSO^4$ + KOH	+ $CoSO^4$ + NH^3 + KOH
Ovalbumina.	Leggera opalescenza, che aumenta agitando.	Il precipitato si scioglie colorando la soluzione in giallo.	Il liquido rimane chiaro e si colora in porpora-eliotropio, che passa in rosso-mattone dopo 30'-40'.	Il liquido rimane chiaro e si colora in porpora-eliotropio, che passa in rosso-mattone dopo 30'-40'.
Siero di sangue giallo pallido.	—	Nessuna reazione.	Si osserva prima un color vino-porto, che con eccesso di KOH diventa porpora-eliotropio, e dopo 30'-40' passa in rosso-oscuro.	—
Fibrina preparata di fresco.	—	Color bruno-sporco. (Aggiungendo KOH, si osserva la reazione di questa, come se non ci fosse NH^3).	Color porpora, passante subito in porpora-bruno, poi in rosso-bruno e finalmente in bruno.	—
Proteosi (così detto peptone di WITTE).	Debole opalescenza, che aumenta agitando.	Soluzione gialla, e precipitato probabilmente inorganico.	Color rosso-porpora, rapidamente cambiantesi in rosso-bruno.	—
Peptone privo di proteosi.	—	Soluzione giallo-pallida, che diventa bruna per l'aggiunta di KOH.	Soluzione bruno-pallida permanente. La reazione è più delicata di quella che dà il $CuSO^4$.	—

Questa reazione ai sali di cobalto distingue dunque benissimo le proteine native dai proteosi e peptoni, non potendosi confondere il colore porpora-eliotropio delle prime con il rosso-bruno degli altri. La reazione è dovuta al costituente metallico del sale, poichè essa

è data egualmente dagli acetati e dai nitrati dei medesimi metalli (rame, nichelio, cobalto).

Reazioni distinte con questi sali dànno altre sostanze proteiche e alcuni loro derivati, come vedremo in seguito.

Qui merita d'essere solamente notato che il **biureto** dà le seguenti reazioni:

a) Con $CoSO^4 + NH^3$ = un giuoco di colori, che dal violetto passa rapidamente al bleu, poi al rosso Bordeaux, e un precipitato grigio; un eccesso di NH^3 produce una colorazione gialla e poi rosso-bruna, con un precipitato grigio.

b) Con $CoSO^4 + NH^3 + KOH$ = colore violetto fugace, cangiante in bleu, con precipitato bleu, mentre la soluzione rimane colorata in porporino; il precipitato, a lungo stare, diventa grigio.

c) $CoSO^4 + KOH$ = colore violetto fugace, cangiante in bleu, con un fine precipitato bleu e soluzione porporina; il precipitato diventa poi grigio.

PICKERING crede probabile che le reazioni colorate che le sostanze proteiche dànno coi sali di Co, di Ni e di Cu dipendano dalla presenza del gruppo molecolare CONH.

Egli propone poi di chiamare la reazione violetta che dànno le sostanze proteiche coi sali di Cu, **reazione ionoproteica** (ἴον = violetto), e la reazione rosso-rosa dei proteosi e dei peptoni, **reazione rodoproteica** (ῥόδον = rosa).

8. **Reazione di Fröhde.** — L'acido solforico contenente 1 % di acido molibdenico colora le sostanze proteiche in bleu intenso. Il precipitato è solubile in NH^3; questa soluzione dà un precipitato cristallino, quando sia trattata con KOH. Dànno questa reazione i corpi della serie aromatica e ureide e anche i sali biliari; così che non è consigliabile per l'orina.

9. **Reazione di Reichl.** — Se si aggiunge a un liquido proteico 2-3 gocce d'una soluzione alcoolica di aldeide benzoica, poi un eccesso di H^2SO^4 diluito a metà con H^2O e infine 1 goccia d'una soluzione di solfato di ferro, si osserva, dopo un certo tempo a freddo, immediatamente a caldo, comparire un colore bleu intenso.

10. **Reazione di Michailow.** — Se si aggiunge a una soluzione di proteina o d'un suo derivato contenente N e S un po' di solfato di ferro e si sovrappone dell'acido solforico concentrato e poi si aggiunge un po' d'HNO^3, si producono un anello bruno e delle zone di colore rosso sangue.

11. **Reazione di Axenfeld.** — Se ad una soluzione di albumina si aggiunge del cloruro d'oro in soluzione 1 ‰, si scalda e si aggiungono ancora 1-2 gocce d'acido formico, il liquido diventa rosa, rosso, porpora, poi bleu, e si depositano dei fiocchi di colore bleu intenso. La colorazione rossa è sola caratteristica delle sostanze pro-

teiche; infatti un gran numero di altre sostanze (glicosio, glicogene, amido, leucina, tirosina, acido urico, creatinina, urea, ecc.) dànno anche la reazione bleu o violetta.

La gelatina dà una colorazione bleu tipica, la cheratina una colorazione bleu del liquido e rosso-bruna della parte non disciolta, la guanina una colorazione porpora, che però passa al giallo aranciato per l'aggiunta di alcali fissi. Questa reazione è sensibilissima.

Tutti questi corpi, se si continua il riscaldamento per 5-6 minuti quando il liquido è già in ebollizione, riducono il cloruro d'oro, in guisa che uno specchio d'oro ricopre il tubo di vetro (PICKERING).

12. **Reazioni colorate dei precipitati proteici.** — H. WINTERNITZ ha saggiato le reazioni colorate che presentano i precipitati di soluzioni proteiche trattate con acido acetico e ferrocianuro potassico, e ha trovato che essi dànno le reazioni xantoproteica, di MILLON, di ADAMKIEWIECZ, di LIEBERMANN, e non quella di FROEHDE. PICKERING poi ha trovato che i detti precipitati dànno anche le reazioni caratteristiche coi solfati di Co, di Ni e di Cu e KOH. Da queste osservazioni egli conclude che una sostanza proteica precipitata con acido acetico e ferrocianuro potassico è appena cambiata nella sua costituzione chimica, e, in ogni caso, deve sempre ritenere ancora un nucleo idrobenzolico e un gruppo CONH nella sua molecola. WINTERNITZ ha poi dimostrato che le reazioni fatte sul precipitato proteico sono estremamente delicate, così che questo metodo acquista una grandissima importanza nei casi in cui un liquido contiene piccole quantità di corpi proteici (orina).

S'intende che il precipitato dev'essere prima abbondantemente lavato, finchè esso non contenga più tracce dei liquidi precipitanti.

Anche i precipitati ottenuti con $HgCl^2$, $AgNO^3$, acetato di Pb, donde il metallo può essere allontanato con H^2S, ottenendo così la proteina di nuovo allo stato normale (FOSTER), non che i precipitati ottenuti con acido fosfotungstenico e fosfomolibdenico dànno le reazioni proteiche caratteristiche, comprese quelle coi sali di Co, Ni e Cu (PICKERING).

A. — PROTEINE.

§ 19. Esse rappresentano le sostanze proteiche genuine, primitive, forse originarie, costituiscono una parte del protoplasma delle cellule vegetali ed animali, ed entrano a far parte anche dei liquidi dell'organismo. — L'analisi elementare di queste sostanze ha dato la seguente composizione centesimale:

C	50,6	—	54,5
H	6,5	—	7,3
N	15,0	—	17,6
S	0,8	—	2,2
P	0,42	—	0,85
O	21,5	—	23,5.

Fra le **proteine genuine**, o **native**, come sono dette dai tedeschi, noi distinguiamo le **albumine** (ovalbumine, sieralbumine, fitalbumina, lattalbumina, mioalbumina, citalbumina (?)) e le **globuline** (citoglobuline, sieroglobuline, miosinogene, fibrinogene, ecc.).

Le **albumine** sono solubili in acqua, anche priva di sali, e da queste soluzioni non sono precipitate mediante l'aggiunta di poco acido o alcali.

Gli acidi minerali forti e i sali metallici le precipitano. Il Na Cl e il Mg SO^4 aggiunti in sostanza fino a saturazione, anche alla temperatura di 30° C., non precipitano le albumine, bensì il $(NH^4)^2 SO^4$ nelle stesse condizioni, completamente. Le albumine sono le proteine più ricche di S (1,6 - 2,2 %).

Le **globuline** sono insolubili in $H^2 O$, solubili in soluzioni diluite di sali neutri, donde precipitano mediante la dialisi, in acqua leggermente acidulata o alcalinizzata, donde precipitano saturando l'acido o l'alcali. Dalle soluzioni leggermente alcaline sono precipitate mediante l'CO^2, che, in eccesso, le ridiscioglie; l'CO^2 e gli acidi mediocremente diluiti le precipitano anche da soluzioni acquose molto diluite (10-15 volte). Sono inoltre precipitate, parzialmente o completamente a seconda della specie di globulina, dal Na Cl e dal Mg SO^4 aggiunti in sostanza fino a saturazione, alla temperatura ambiente; sempre completamente dal $(NH^4)^2 SO^4$.

Le globuline contengono meno S (1 %), ed hanno qualche somiglianza con le alcaliproteine (cosidetti albuminati alcalini).

I precipitati ottenuti con uno dei mezzi accennati sopra possono essere facilmente ridisciolti in soluzioni 3-5 % di Na Cl.

§ 20. Le proteine disciolte, scaldate, coagulano a diverse temperature, perdendo la capacità di ridisciogliersi: alla temperatura ordinaria di ebollizione dell'acqua, tutte sono coagulate.

Sopra il principio della coagulabilità delle proteine a diverse temperature si basa il metodo delle coagulazioni frazionate per separare le proteine insieme disciolte in un liquido. Ecco i punti di coagulazione di varie albumine e globuline:

Tabella ventiduesima.

Albumine:		Globuline:	
Ovalbumina	73° C	Fibrinogeno	56° C
Sieroalbumina α	73°	Sieroglobulina	75°
» β	77°	Citoglobulina	75°
» γ	84°	Miosinogeno	56°
Citoalbumina	73°	Miglobulina	63°
Mioalbumina	73°	Vitellina (?)	75°
Lattalbumina	77°	Cristallina	73°
Istone della milza	59°	Emocianina (?)	68°

Coagulazione frazionata. — La coagulazione frazionata si eseguisce nel seguente modo, assai semplice:

In un gran bicchiere pieno d'acqua e contenente un grande agitatore, s'immerge, fissandola, una comune provetta, in cui sono stati versati 10-12 cm.^{3} del liquido da esaminarsi. Nel liquido pescano il bulbo d'un termometro che permetta di leggere i decimi di grado e un piccolo agitatore scorrente intorno al termometro.

Si riscalda l'acqua del bicchiere con una fiamma a gas, lentamente, agitando sempre. A un certo momento il liquido contenuto nella provetta, osservato attentamente, diventa opalescente. Si prende nota del grado di temperatura a cui questo fenomeno ha avuto luogo. Si continua a scaldare finchè il liquido sia divenuto affatto opaco, quindi si mantiene la temperatura al grado in questo momento osservato per cinque minuti, agitando sempre. In tal guisa si può esser sicuri che tutta la proteina coagulabile a quel grado di temperatura è coagulata. Si osserva infatti che man mano l'opacità aumenta, poi si formano piccoli grumi e coaguli più grossi, che finalmente precipitano al fondo della provetta. Si lascia raffreddare, si filtra, si ripete sul filtrato lo stesso procedimento, notando le temperature alle quali le varie coagulazioni si verificano. Spesso accade che scaldando il liquido una seconda e anche una terza volta si formino altrettante coagulazioni, naturalmente più scarse, alla stessa temperatura alla quale avvenne la prima. In tali casi bisogna filtrare sempre di nuovo e considerare i vari precipitati come uno solo.

Perchè la coagulazione abbia luogo completamente, è necessario che il liquido in cui si trovano disciolte le proteine contenga una piccola quantità di sale neutro, e abbia reazione acida. Se il liquido contiene quantità considerevoli di sali, i punti di coagulazione si trovano tutti abbassati; onde sarebbe indispensabile, tutte le volte che si pubblicano resultati ottenuti col metodo delle coagulazioni frazionate, indicare anche la concentrazione salina del liquido esaminato. Se a questo si aggiunge troppo acido o troppo poco o punto, la coagulazione è disturbata, nel primo caso perchè nel prolungato riscaldamento si formano acidalbumine, nel secondo perchè la coagulazione delle proteine non avviene completamente in liquidi neutri, e non avviene affatto in liquidi alcalini. Ma poichè ad ogni coagulazione l'acido aggiunto (una-due goccie di acido acetico molto diluito) vien legato o altrimenti saturato, è necessario assicurarsi in ogni nuova coagulazione della reazione del liquido. È preferibile non acidificare, ma solo neutralizzare il liquido, da principio, e acidificare solo quando comparisce l'opalescenza nel liquido albuminoso, aggiungendo 1-2-3 goccie di acido acetico diluito su 10-15 cm.^{3} di liquido, a seconda del suo contenuto proteico.

Possiamo anche servirci della disposizione disegnata nella fig. 10,

e che è dovuta a SCHAEFER. Una fiamma a gas G riscalda l'acqua contenuta nel vaso metallico C, in cui è immerso un serpentino, a traverso il quale scorre l'acqua dal condotto T. L'acqua calda, seguendo la direzione delle frecce, circola a traverso la boccia F, fissata al sostegno S, nella quale pesca la provetta P, contenente il

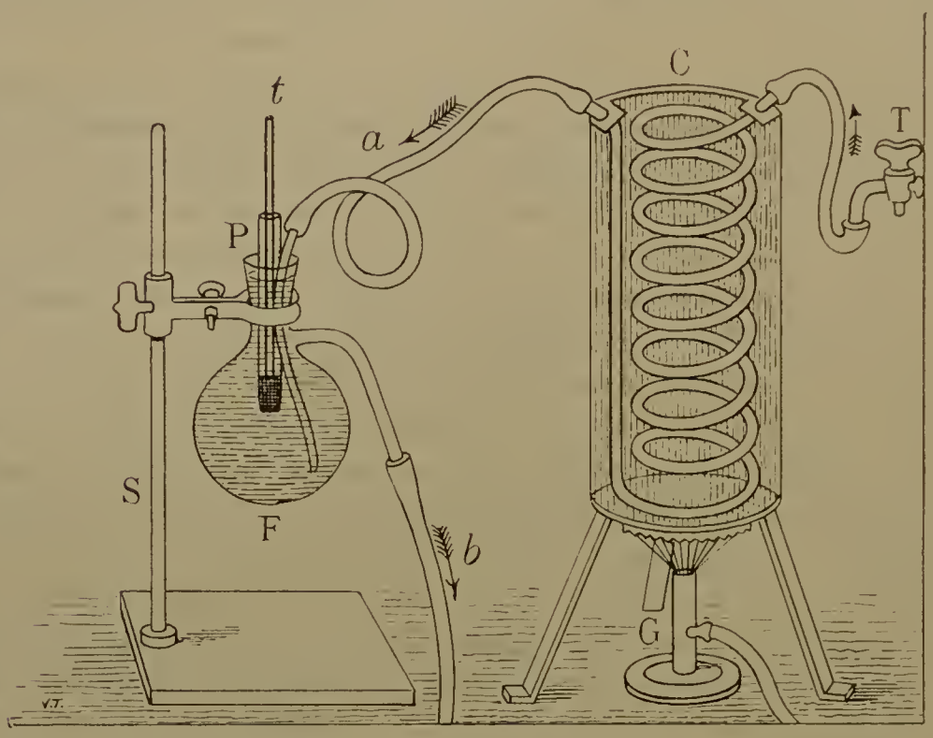


Fig. 10.

liquido in esame e il termometro *t*. Le determinazioni si fanno secondo le indicazioni dianzi ricordate.

Le albumine e le globuline dànno le reazioni colorate descritte sopra.

§ 21. **Reazioni di precipitazione delle proteine.** — Abbiamo visto che il calore coagula denaturando le proteine.

Una precipitazione di queste si ottiene in seguito all'azione di numerose sostanze chimiche, che noi possiamo dividere in due grandi categorie: quelle che precipitano le proteine, denaturandole, vale a dire rendendole insolubili, e quelle che le precipitano, senza denaturarle.

Fra le reazioni di precipitazione della prima categoria, le più notevoli sono quelle che hanno luogo mediante:

1. Aggiunta di acido acetico, più qualche goccia di una soluzione di ferro- o ferricianuro potassico, in assenza d'un eccesso di $Mg\,SO^4$. Disturba spesso il color giallastro che prende il liquido (specialmente quando si tratta di orina), per la presenza di nitriti (JOLLES).

2. Aggiunta di acido acetico o acido ossalico a un liquido proteico contenente disciolto un eccesso di $Na\,Cl$ o $Na^2\,SO^4$ o $Mg\,SO^4$.

3. Acidi minerali forti, e specialmente: acido nitrico a freddo (si stratifica in una provetta il liquido proteico sopra l'acido nitrico: al punto di contatto si forma un anello biancastro, più o meno rapidamente a seconda della quantità di proteina, il quale, se non resulta di sostanza proteica, sparisce riscaldando il liquido), acido metafosforico (non l'ortofosforico), in assenza di un eccesso di $Mg\,SO^4$. Il precipitato che dà l'acido metafosforico somiglia molto ai corpi nucleinici (LIEBERMANN).

4. Acidi fosfovolframico, fosfomolibdenico, fosfotungstenico in presenza di tracce di acidi minerali liberi ($H\,Cl$); acido tricloroacetico 2-5 % (metodo di FRAENKEL).

5. Sali dei metalli pesanti: acetato neutro e basico di piombo in quantità non eccessiva, cloruro mercurico, solfato di rame, nitrato d'argento, cloruro o acetato di ferro, joduro di potassio e mercurio (preparato di fresco, saturando una soluzione bollente di $K\,I$ con joduro di mercurio) o joduro di potassio e bismuto, in presenza di $H\,Cl$ (metodo di BRUECKE), volframato sodico, ecc. I precipitati sono albuminati dei metalli corrispondenti; e, se si allontana il metallo mediante una corrente di $H^2\,S$, si ottiene la proteina nello stato primitivo (FOSTER). PICKERING crede che il metallo non entra in combinazione chimica col gruppo $O\,H$ del nucleo benzolico o col gruppo $CNOH$, perchè i detti precipitati dànno sempre le reazioni colorate coi sali di Co, di Ni e di Cu.

6. Acido tannico in presenza di poco acido acetico, acido picrico in presenza di un acido organico, p. es. citrico (reattivo di ESBACH), soluzione concentrata di $Na\,Cl$ più acido tannico in piccolo eccesso (metodo di GIRGENSOHN).

7. Alcool assoluto, in assenza di alcali liberi, o meglio dopo avere leggermente acidulato il liquido con acido acetico. Il liquido deve anche contenere almeno 1 % di sale neutro.

Gli alcoli più alti nella serie hanno un minore potere di precipitazione e di coagulazione di quelli più bassi. Fa eccezione l'alcool allilico, che coagula rapidamente l'albume d'ovo ed è l'unico che coagula i proteosi.

Delle aldeidi alcune (acetaldeide) coagulano come gli alcali le sostanze proteiche, altre no (L. BRUNTON e MARTIN).

8. Soluzione alcoolica di acetato ferrico alcalinizzata con idrato ferrico recentemente precipitato. Questa reazione è molto sensibile.

9. Soluzioni alcooliche di acetato basico di rame, di acetato e cloruro di piombo.

10. L'idrato d'ossido di rame gelatinoso.

Di quanti sono stati noverati, i reattivi più sicuri e che precipitano completamente le proteine, sono: l'acido tannico, gli acidi fosfomolibdenico e fosfotungstenico, i judori doppi di K e Hg o di K e

Bi in presenza di HCl, ecc. È bene rammentare sempre che una delle cose più difficili a raggiungere è la completa dealbuminizzazione di un liquido, la quale dipende e dalla reazione del liquido, e dal suo contenuto in sali neutri, e dal contenuto di proteine.

11. JOLLES ha proposto recentemente, per scoprire anche tracce di proteine (specialmente nell'orina), il seguente reattivo: bicloruro di mercurio gr. 10,0, cloruro sodico gr. 10,0, acido succinico gr. 20,0, acqua distillata gr. 500,0. Si mettono 5 cm³. di liquido proteico filtrato in una provetta e vi si aggiungono 1 cm.³ di acido acetico (30 %) e 4 cm.³ di reattivo; in un'altra provetta, di confronto, invece di reattivo si mettono 4 cm.³ di H^2O. Un intorbidamento del liquido si osserva anche se la proteina è contenuta nella proporzione di 1 : 120000. È forse la prova più sensibile.

§ 22. **Altri mezzi di precipitazione delle proteine.** — Soluzioni diluite di saponi, ottenute chiare mediante l'aggiunta d'un po' di glicerina, e che diventano opalescenti leggermente acidificandole, precipitano le proteine dalle loro soluzioni acquose.

Ma una precipitazione di proteine anche più elegante si può ottenere mediante la lecitina. Se si scioglie della lecitina secca in cloroformio, si filtra, si riduce il filtrato a un piccolo volume, e si aggiungono più volumi di acetone anidro, si ottiene un precipitato, costituito da lecitina pura di grassi e di acidi grassi. Questa lecitina-acetone, disseccata, si scioglie poi in acqua, e se a questa soluzione di acetone-lecitina si aggiunge a gocce una soluzione neutralizzata di albume d'ovo, si ottiene un precipitato fioccoso, che si deposita al fondo. Allo stesso modo si comporta la jecorina di DRECHSEL. Sembra dunque che varie combinazioni degli acidi grassi posseggano la proprietà di precipitare le proteine disciolte (ALTMANN).

HUNDESHAGEN preparò un'anidride dell'acido fosfoglicerico che precipita fortemente le proteine, al contrario del comune acido fosfoglicerico, che è inattivo.

L'acido taurocolico è anche un energico precipitante delle sostanze proteiche.

§ 23. Precipitazione delle proteine si ottiene anche mediante sali neutri, che non le denaturano; e propriamente, tra i sali più comuni, il Na Cl e il Mg SO^4, aggiunti sino a saturazione del liquido, precipitano le globuline più o meno completamente, il $(NH^4)^2 SO^4$, aggiunto fino a una determinata concentrazione (ved. in seguito, e inoltre i MUSCOLI), precipita le globuline; aggiunto fino a completa saturazione, precipita anche le albumine. Se il liquido contiene sintonine e proteosi, il solfato ammonico li precipita anche completamente; questo sale non precipita però il peptone vero.

Altri sali che producono precipitazione più o meno completa delle proteine sono: un miscuglio di solfato di sodio e di solfato di magnesio, l'acetato e il carbonato-potassico, ecc.

HOFMEISTER e i suoi discepoli hanno pubblicato nell'ultimo decennio una serie di ricerche, istituite allo scopo di indagare le leggi che regolano l'azione dei sali minerali in presenza di sostanze colloidi in generale, e in special modo di sostanze proteiche. Riserbandoci di tornare sui resultati di queste interessanti ricerche quando tratteremo delle SOSTANZE COLLOIDI, qui vogliamo riferire brevemente quanto quegli Autori hanno messo in chiaro relativamente all'azione dei sali minerali sopra alcune proteine.

Già il LEWITH aveva osservato che i sali, i quali non alterano le proteine, precipitano sempre prima le globuline, e solo dopo la completa precipitazione di queste, se la solubilità specifica dei sali lo permette, cominciano a precipitare le albumine, e che l'azione precipitante dei vari sali sulle globuline è molto diversa; per es. quest'azione è quattro volte minore pel $Na\,N\,O^3$, facilmente solubile, che per il $Na^2\,S\,O^4$, il quale è molto meno solubile. LEWITH inoltre stabilì che la solubilità dei sali e il loro potere di precipitazione non vanno parallelamente. La solubilità dei sali ha importanza solo in quanto che a molti sali, a causa della loro insufficiente solubilità, viene ad esser limitato il potere di precipitazione.

I solfati e gli acetati hanno il più alto potere di precipitazione; vengono poi i cloruri, e da ultimo i nitrati (LEWITH). Ciò indicherebbe che il potere di precipitazione di un sale dipende in primo luogo dalla natura dell'acido. Merita però di esser notato subito che i sali che stanno in prima linea sono i meno diffusibili, e alcuni di essi hanno anche un'azione drastica, mentre i più diffusibili, che hanno un'azione diuretica (cloruri, $Na\,N\,O^3$) stanno in ultima linea, in ordine al potere di precipitazione.

Un posto speciale occupano il $Ca\,Cl^2$ e il $Ca\,(N\,O^3)^2$, che hanno un forte potere di precipitazione. Essi si distingouno dagli altri sali alcalini e alcalino-terrosi, per ciò che i precipitati che essi formano perdono rapidamente la proprietà di ridisciogliersi in acqua. Riguardo a ciò il Ca si avvicina alle terre e ai metalli pesanti. Inoltre coi sali di Ca non si può ottenere una precipitazione separata delle globuline e delle albumine, giacchè con l'aumentare del sale aumenta parallelamente il precipitato, senza poter notare con sicurezza un momento d'interruzione nella precipitazione. Il $Ca\,Cl^2$, aggiunto a un liquido proteico fino a saturazione, precipita completamente tanto le globuline quanto le albumine; il $Ca\,(N\,O^3)^2$ è meno attivo. Queste proprietà **organizzatrici** dei sali di calcio ci sembrano molto importanti per la storia dell'istogenesi, e ci fanno tornare alla memoria la presenza del Ca in ogni protoplasma vivente e la sua indispensabilità nei processi di coagulazione delle proteine.

Tabella ventitreesima.

Sali	Contenuto totale in proteine di 100 cm.³ di liquido	La precipitazione della ovoglobulina comincia quando 100 cm³. del liquido contengono del sale gr.	Valori analoghi ottenuti da Lewith per la sieroglobulina
Solfato di litio	2,0	8,61	—
Solfato di sodio	2,0	11,39	11,4
Fosfato di sodio. . . .	2,0	11,69	—
Solfato di ammonio . .	2,0	13,39	14,2
Acetato di sodio. . . .	2,0	13,83	14,6
Fosfato di potassio . .	2,0	13,99	—
Citrato di sodio	2,0	14,42	—
Tartrato di sodio . . .	2,0	15,11	—
Solfato di magnesio . .	2,0	15,93	16,69
Acetato di potassio . .	2,0	16,38	17,6
Fosfato d'ammonio. . .	2,0	16,57	—
Tartrato sodio-potassico .	2,0	16,72	—
Citrato di potassio. . .	2,0	17,07	—
Tartrato di potassio . .	2,0	17,08	—
Cloruro di sodio . . .	2,0	21,21	21,8
Cromato di sodio . . .	2,0	21,22	—
Citrato di ammonio . .	2,0	21,99	—
Tartrato di ammonio . .	1,0	25,05	—
Bicarbonato di potassio .	2,0	25,37	—
Cromato di potassio . .	2,0	25,59	—
Cloruro di potassio . .	1,0	26,28	25,9
Nitrato di sodio. . . .	2,0	46,10	46,7
Clorato di sodio. . . .	2,0	58,2	—

Hofmeister ha saggiato un gran numero di sali, relativamente al loro potere di precipitazione, ed ha tentato di stabilire delle leggi in ordine al rapporto che deve esistere fra questo potere e le proprietà chimico-fisiche e fisiologiche dei sali medesimi. I principali resultati, cui egli è pervenuto, sono i seguenti:

1. Non dànno precipitati di proteine il NH^4Cl, $MgCl^2$, $NaBr$, KBr, NH^4Br, NaI, KI, KNO^3, NH^4NO^3, $Mg(NO^3)^2$, $KClO^3$, $NH^4C^2H^3O^2$, $Mg(C^2H^3O^2)^2$, $NaHCO^3$, cromato d'ammonio. La ragione per cui questi sali mancano di qualsiasi potere di precipitazione sulle proteine sta in parte nella piccolissima solubilità di alcuni di essi ($NaHCO^3$). Per gli altri, solubilissimi (KI, $Mg(NO^3)^2$), non resta che ammettere un'assoluta incapacità di precipitare le globuline.

2. Studiando l'azione di vari sali sopra soluzioni di ovoglobulina, Hofmeister venne ai resultati che si vedono a colpo d'occhio nella tabella ventitreesima.

Avendo Hofmeister disposto in una colonna i valori ottenuti da Lewith, da questa tabella resulta evidente che i limiti di precipitazione dell'ovoglobulina e della sieroglobulina coincidono.

3. **La concentrazione alla quale un sale comincia a precipitare una proteina è tanto caratteristica per essa, quanto il grado di solubilità per una sostanza cristallina.**

4. Se si riportano i valori di precipitazione delle globuline al numero delle molecole saline che si trovano in un litro di soluzione, si ottengono dei numeri che si possono ordinare nelle seguenti serie:

I. 1,51 — 1,69	II. 2,03	III. 2,51 — 2,72	IV. 3,53 — 3,63	V. 5,42 — 5,52
Solfato di litio	Solf. d'ammonio	Solf. di magnesio	Cloruro di sodio	Nitrato di sodio
Solfato di sodio		Fosf. d'ammonio	Clor. di potassio	Clorato di sodio
Fosfato di sodio		Citr. d'ammonio		
Fosf. di potassio		Tartr. d'ammonio		
Acet. di potassio		Bicarb. di sodio		
Acetato di sodio		Cromato di sodio		
Citr. di potassio		Crom. di potassio		
Citrato di sodio				
Tartr. di potassio				
Tartrato di sodio				

Stabilite queste serie, LEWITH e HOFMEISTER hanno voluto cercarvi dei rapporti fra la posizione rispettiva dei sali e la loro azione drastica o diuretica. Ma su ciò non possiamo fermarci.

Tabella ventiquattresima.

	Litio	Sodio	Potassio	Ammonio	Magnesio
Solfati . .	8,61	11,39	(non precipit.)	13,39	15,93
Fosfati . .	—	11,69	13,99	16,57	(pochis. solub.)
Acetati . .	—	13,83	16,38	(non precipit.)	(non precipit.)
Citrati . .	—	14,42	17,07	21,99	—
Tartrati . .	—	15,11	17,08	25,05	—
Bicarbonati	—	(non precip.)	25,37	—	—
Cromati . .	—	21,22	25,59	(non precipit.)	—
Cloruri . .	(alter. le prot.)	22,21	26,28	(id.)	(non precipit.)
Nitrati . .	(id.)	46,10	(non precipit.)	(id.)	(id.)
Clorati . .	—	58,82	(id.)	—	—

(Risultati di LEWITH *per la sieroglobulina).*

Solfati . .	—	11,4	(non precipit.)	14,2	16,9
Acetati . .	—	14,7	17,6	(non precipit.)	(non precipit.)
Cloruri . .	—	21,8	25,9	(id.)	(id.)
Nitrati . .	—	46,9	(non precipit.)	(id.)	(id.)

5. Nella tabella ventiquattresima, HOFMEISTER ha ordinato i valori ottenuti da lui per l'ovoglobulina e da LEWITH per la sieroglobulina, trasversalmente secondo le basi e longitudinalmente secondo gli acidi dei sali impiegati nelle precipitazioni.

Uno sguardo a questa tabella mostra che i numeri, indicanti la quantità di sale (in gr.) contenuta in 100 cm.^{3} di liquido al momento in cui la precipitazione comincia, aumentano orizzontalmente da si-

nistra a destra e verticalmente dall'alto al basso. Il potere di precipitazione dei sali dipende dunque, come tante altre loro proprietà, tanto dalla natura dell'acido (LEWITH) quanto da quella della base. Il più forte potere di precipitazione presentano, l'acido essendo lo stesso, i sali di litio, poi vengono quelli di sodio, di potassio, d'ammonio e di magnesio, in scala decrescente. Dei sali aventi la medesima base rivelano un potere di precipitazione più alto i solfati, poi vengono i fosfati, gli acetati, i citrati, i tartrati, i bicarbonati, i cloruri, i nitrati e i clorati. Secondo BUELOW, però, il potere di precipitazione (egli studiò l'ovalbumina pura) aumenta dai cloruri ai **nitrati**, e da questi ai solfati. Inoltre egli ha trovato che il **potere molecolare di precipitazione dipende essenzialmente dalla natura dell'acido**, e aumenta nello stesso modo.

6. Il potere di precipitazione dei singoli sali varia a seconda del contenuto in proteine del liquido in esame. Ciò resulta evidentemente dalla seguente tabella di HOFMEISTER:

Tabella venticinquesima.

Contenuto in proteine di 100 cm.³ di liquido	Principio della precipitazione delle globuline quando 100 cm.³ di liquido contengono grammi di	
	Acetato potassico	Solfato ammonico
gr. 0.5	—	16,1
» 1,0	19,8	15,0
» 2,0	16,2	13,4
» 3,0	14,4	12,8
» 4,0	12,6	12,3
» 5,0	9,0	12,3
» 6,0	7,2	11,8
» 7,0	9,0	—
» 8,0	9,0	—

7. Diamo anche quest'altra tabella, che può riescir molto utile, poichè contiene il limite iniziale e finale di precipitazione delle globuline e delle albumine, per i sali più in uso e per un contenuto noto di proteine nel liquido in esame.

8. **Il meccanismo della precipitazione delle sostanze proteiche con i sali neutri consiste nel fatto che essi tolgono loro il solvente. Questo potere di sottrarre l'acqua è diverso per i diversi sali.**

9. Notevole è il fatto che dei sali di K dànno precipitato di proteine solamente l'**acetato potassico** e, in piccolissima quantità, anche il **cloruro potassico**, mentre dei sali di Na dànno precipitati proteici il cloruro, il solfato, l'acetato, il nitrato, e, in piccolissima quantità, anche il fosfato e il clorato.

Tabella ventiseiesima.

Numero d'ordine	Sali	100 cm.³ di liquido contengono di proteina gr.	Contenuto in gr. di sale in 100 cm.³ del liquido quando la precipitazione delle globuline		Contenuto in gr. di sale in 100 cm.³ del liquido quando la precipitazione delle albumine		Mediante la saturazione con sale in polvere si raggiunge
			comincia	termina	comincia	termina	
VII.	Solfato sodico	0,98	11,4	—	—	—	incompleta precip. di globuline.
	Solfato ammonico	0,99	14,2	23,1	33,6	(47,2) [1]	completa precipitazione delle due proteine.
IX.	Acetato sodico	2,26	14,6 [2]	—	—	—	precipitazione delle globuline sino a tracce.
VIII.	Acetato sodico	0,98	15,0 [2]	—	—	—	
X.	Solfato magnesico	0,98	16,9	25,7	—	—	completa precipitazione delle globuline.
II.	Acetato potassico	2,26	17,6 [2]	35,2	64,6	sopra 82,2 [4]	completa precipitaz. delle sostanze proteiche.
III.	Acetato potassico	0,98	22,8 [3]	—	60,8	88,1	
IV.	Cloruro sodico	1,66	21,8	—	—	—	incompleta precipitaz. delle globuline.
I.	Cloruro potassico	1,04	25,9	—	—	—	incompleta precipitazione di globuline.
V.	Nitrato sodico	0,98	46,7	—	—	—	quasi completa precipitazione delle globuline.
VI.	Nitrato sodico	2,26	43,4	—	—	—	

[1]) Questo numero di KAUDER vale per un contenuto di proteine mo basso.
[2]) Dopo aver lasciato il liquido a lungo.
[3]) Dopo breve tempo.
[4]) Per un contenuto proteico = gr. 1,

§ 24. **Determinazione del contenuto proteico totale di un liquido.** — Spessissimo si ha bisogno di eseguire una simile determinazione quantitativa, e troppo spesso si vedono impiegati metodi insufficienti, e trascurati quegli accorgimenti tecnici che sono indispensabili a ottenere buoni risultati.

1. **Metodo di Girgensohn.** — In un determinato volume di liquido si precipitano le proteine mediante l'aggiunta di $^1/_2$ volume

di soluzione di Na Cl e di una soluzione satura di tannino in eccesso. Il precipitato è raccolto sopra un filtro, pesato, lavato con acqua tepida per allontanare i sali, poi con alcool bollente per allontanare il tannino, quindi disseccato a 110° C. e pesato. Finalmente il filtro (a ceneri note) è incenerito in un crogiuolo, pesato insieme col precipitato, il crogiuolo è raffreddato sull'H^2SO^4 e pesato di nuovo.

Sottraendo quest'ultimo peso (delle ceneri totali) dal peso primitivo, si ha il peso delle proteine contenute in un determinato volume del liquido in esame.

Se si tratta di orina, bisogna prima allontanare l'acido urico mediante l'aggiunta di poco acido acetico e raffreddamento (in ghiaccio) per 24 ore.

2. **Precipitazione con alcool assoluto.** — Dalla soluzione proteica contenente almeno l'1-2 % di sali neutri e leggerissimamente acidulata con acido acetico, si precipitano le proteine con alcool assoluto, di cui si deve aggiungere una quantità tale che il liquido totale venga a contenere definitivamente 70-80 volumi % di alcool. Il precipitato è raccolto sopra un filtro di peso noto, disseccato, pesato, incenerito, nuovamente pesato. Se si ha il sospetto che nel liquido in esame vi sia del glicogene o altra sostanza insolubile in alcool, il metodo non è da usarsi.

Metodo di Schmidt. — Secondo SCHMIDT, si aggiungono al liquido proteico neutralizzato 5 volumi di alcool assoluto, e dopo 24 ore si fa bollire il tutto per 4-5 minuti. Il precipitato è raccolto, ecc.

3. **Metodo della coagulazione col calore.** — Uno dei metodi più usati è quello della coagulazione col calore; esso dà ottimi risultati, quando si osservano alcune norme generali.

L'ebollizione, per 8-10 minuti, coagula tutte le proteine (non le sintonine, i proteosi, i peptoni, ecc.) da una soluzione acquosa leggermente acida e contenente non meno dell'1-2 % di sali neutri liberi.

Il precipitato è raccolto, lavato con acqua calda, alcool, etere, disseccato, pesato, incinerato, nuovamente pesato. La differenza di peso, prima e dopo l'incinerazione, corrisponde alla quantità di proteine contenute in un determinato volume del liquido esaminato.

Perchè questo metodo dia buoni risultati è necessario assicurarsi prima se il liquido contiene la voluta quantità di sale neutro libero: se non la contiene, vi si aggiunge una quantità corrispondente di Na Cl. Poi bisogna determinare in piccole parti del liquido stesso già perfettamente neutralizzato con acido acetico, quanto di una stessa soluzione diluita di acido acetico bisogna aggiungere al liquido. al momento in cui comincia ad entrare in ebollizione, perchè l'acidificazione sia sufficiente a produrre una completa coagulazione delle proteine. Un'acidificazione insufficiente o eccessiva nuoce. Determi-

nato ciò, si calcola il volume di soluzione acetica necessario per il volume di liquido proteico (già **neutro**) impiegato; si riscalda questo liquido sopra un bagno d'acqua, e quando comincia a bollire si aggiunge in due o tre volte la soluzione acetica, mentre si agita sempre.

Tanto nelle prove preliminari, quanto nel saggio definitivo, per assicurarsi che il filtrato non contenga più proteine, si consiglia la reazione di HELLER (con l'acido nitrico, ved. sopra).

Tuttavia può accadere che nel filtrato si trovino proteine non coagulate. In tal caso si concentra il filtrato, si allontana eventualmente il grasso con etere, e si precipitano le poche proteine con tannino. Il precipitato è raccolto, ecc. Si può calcolare come proteine il 63 % (in peso) del precipitato così ottenuto (HAMMARSTEN).

4. In un determinato volume di liquido si precipitano le proteine col $CuSO^4$ (RITTHAUSEN) o meglio con tannino (SEBELIEN), tenendo conto delle avvertenze fatte avanti, e poi si determina col metodo di KJELDAHL-WILFARTH (ved. PARTE TERZA) l'N totale del precipitato. Moltiplicando per 6,25 questo dato numerico, si ha la quantità totale di proteine contenute nel liquido.

È il metodo più esatto, e, benchè richieda una determinazione di N, non è il più lungo.

5. **Metodo di Devoto.** — A un determinato volume di liquido si aggiunge l'80 % in peso di solfato ammonico cristallizzato in sostanza; si riscalda sopra un bagno d'acqua, finchè il sale si sia sciolto; quindi si espone il liquido salato per 40 minuti — 2 ore ai vapori d'acqua bollente, in una pentola. Si raccoglie il precipitato (coagulato) sopra un filtro, lo si lava con acqua finchè si sia allontanato tutto il solfato d'ammonio, poi lo si estrae con alcool, etere, lo si dissecca, ecc.

Il metodo dà buoni risultati.

Ma si può sostituire l'esposizione ai vapori d'acqua col tenere il precipitato in una stufa a secco a 110° per pochi minuti, a fine di ottenere la coagulazione del precipitato.

6. **Metodo densimetrico di Lohnstein.** — Si misurano 250 cm.^{3} del liquido e si mettono da parte in un matraccio A, al sicuro dalla minima evaporazione. Altri 250 cm.^{3} dello stesso liquido sono versati in un matraccio B della capacità di 300 cm.^{3}, e ricoperti di uno strato di olio d'oliva (20 cm.^{3}). Si riscalda il matraccio B sopra un bagno d'acqua, evitando di raggiungere la temperatura d'ebollizione. Quando il liquido s'intorbida, vi si aggiungono alcune gocce di acido acetico, che determina la coagulazione di tutte le proieine (lo stesso numero di gocce d'acido acetico è aggiunto ai 250 cm.^{3} di liquido messi da parte). I due matracci A e B si portano alla stessa temperatura (per esempio, 15° C.), tenendoli immersi in bagno d'acqua per

un certo tempo; quindi si filtra il contenuto del matraccio B il cu volume non deve essersi modificato, l'evaporazione del liquido essendo impedita dallo strato d'olio.

Si determina quindi il peso specifico dei due liquidi A e B, mediante lo speciale sensibilissimo areometro [1]) di LOHNSTEIN, fino alla quinta cifra decimale. La differenza fra i due pesi specifici s_1 del liquido A ed s_2 del filtrato del liquido B, è dovuta alle proteine coagulabili del liquido in esame il cui contenuto percentuale in peso p si calcola con l'aiuto dell'equazione

$$s_1 - s_2 = \left(\alpha - \frac{s_2 - s_0}{100}\right) p,$$

in cui (supponendo che la temperatura dei due liquidi sia identica) s_0 rappresenta il peso specifico dell'H^2O alla detta temperatura (per esempio 15° C.), ed α, che è eguale a 0,00278, una costante, che rappresenta di quanto l'1 % di proteina in **soluzione acida** eleva il peso specifico di un liquido.

Il metodo sarebbe molto consigliabile in pratica.

7. **Metodo polarimetrico.** — Anche col polarimetro di LAURENT o meglio col polaristrobometro di WILD si può determinare il contenuto percentuale di un liquido in proteine. Quando il liquido non contiene altre sostanze che agiscano sulla luce polarizzata, la determinazione si può fare direttamente. Nel caso contrario bisogna distinguere se le sostanze attive sono tutte levogire o se vi sono anche sostanze destrogire. Siccome le proteine sono tutte levogire, nel primo caso si potrebbe per differenza fra il potere rotatorio del liquido prima e dopo l'eliminazione delle proteine (per coagulazione. evitando l'evaporazione) determinare la parte spettante alle proteine: nel secondo caso sarebbe meglio ricorrere a un altro metodo.

Si riempie il tubo lungo 10 cm. dell'apparecchio di LAURENT e si osserva la deviazione che lo strato del liquido produce sul piano della luce polarizzata: sia, per esempio, di 1°,15′ o, in frazione decimale, di 1°,25 per la data soluzione di globulina. Essendo per questa sostanza

$$\alpha\,(D) = -47^0,8,$$

basta dividere 1°,25 per 0,478 per avere la quantità in peso di globulina contenuta in 100 cm.³ di liquido.

(Come si può vedere nella PARTE TERZA,

$$\alpha\,(D) = -47^0,8$$

---

[1]) Questo strumento (descritto dall'A. in: *Allg. med. Centralzeitung*, N.° 31. 1891) è fornito dalla Casa L. Reimann, in Berlino S. O., Schmidstrasse, 32.

significa che la soluzione 1 % di globulina, frapposta nello spessore di 10 cm., devia di 0°,478 il piano della luce polarizzata).

Per parecchie ragioni questo metodo, però, non dà risultati attendibili (BUELOW).

§ 25. **Dealbuminizzazione d'un liquido.** — Per dealbuminizzare completamente un liquido si consiglia:

ebollizione del liquido acidulato ed eliminazione di tracce rimaste di proteine mediante acetato di piombo o acetato di ferro (HOFMEISTER) preparato saturando dell'acido acetico con idrato di ossido di ferro recentemente precipitato;

se si vuol evitare la cottura del liquido, si può adoperare l'acetato di piombo, o l'alcool assoluto;

se nel liquido v'è glicogene, si può usare l'aggiunta alternata e ripetuta di HCl e joduro mercuro-potassico (BRUECKE).

Per il sangue, E. CAVAZZANI si giovò del seguente processo: ebollizione del liquido diluito in 10 volumi di acqua, dopo l'aggiunta di poche gocce di un miscuglio di 10 parti di acido acetico (p. spec. 1040) più 1 parte di acido lattico, evaporazione del liquido, aggiunta di qualche cristallino di carbonato sodico quando il liquido non si rischiara forse perchè si aggiunse un po' troppo di miscuglio acido: i filtrati sono limpidi ed incolori.

§ 26. **Separazione delle proteine e loro determinazione quantitativa.** — Per separare e determinare quantitativamente le albumine e le globuline esistenti disciolte in un liquido, il miglior metodo è quello di HAMMARSTEN, che descriveremo diffusamente.

A un determinato volume di liquido si aggiunge un volume quintuplo di soluzione satura di $Mg\,SO^4$ e poi dei cristalli dello stesso sale, fino a che se ne sciolgano. Si lascia il liquido per 24 ore, agitandolo di tanto in tanto, e quindi si separa il **precipitato di globuline** formatosi, filtrando il liquido a traverso un filtro disseccato a 110° C e portato a peso costante. Si lava il precipitato sul filtro con soluzione satura di $Mg\,SO^4$, finchè il filtrato si presenti affatto privo di proteine; quindi l'imbuto insieme col filtro è tenuto in una stufa a 110° C per 12 ore, allo scopo di coagulare le **globuline precipitate**; poi si lava il precipitato con acqua distillata bollente, allo scopo di allontanare il $Mg\,SO^4$ rimasto sul filtro, finchè il filtrato saggiato con $Ba\,Cl^2$ non rivela più la presenza di $Mg\,SO^4$, e da ultimo con alcool bollente e con etere. I filtri sono poi novamente disseccati e pesati fino a che si sia raggiunto un peso costante. Sottraendo da questo il peso del filtro, si ha la **quantità di globuline** contenute nel volume di liquido esaminato.

I primi filtrati sono stati intanto raccolti (si escludono quelli che non rivelano più presenza di proteina) e riuniti insieme; si **neutralizza** ora il liquido con poche gocce di acido acetico diluito, e lo si

fa bollire per 10-15 minuti, meglio sopra un bagno d'acqua; quando comincia ad opacarsi si aggiungono ancora poche gocce di acido acetico, diluito e si ha cura che la reazione del liquido totale rimanga leggermente acida fino alla fine dell'ebollizione. Quindi si lascia raffreddare e si filtra sopra un filtro di peso noto e costante; si lava il precipitato con acqua distillata bollente, con alcool ed etere, lo si dissecca e lo si pesa. Così si ha la **quantità delle allumine.** Addizionando i due numeri, si ha la **quantità delle proteine totali,** e, per calcolo, il contenuto percentuale del liquido in proteine, globuline e albumine. Dividendo il numero rappresentante la quantità percentuale delle albumine per l'altro delle globuline, si ha il così detto **quoziente proteico.**

Altri metodi, meno esatti, sono i seguenti: A un volume del liquido si aggiunge un volume eguale di soluzione satura di $(NH^4)^2SO^4$: così precipitano (HOFMEISTER, KAUDER e POHL) le sole globuline. Il filtrato si satura con solfato d'ammonio in polvere, per precipitare le albumine. Le operazioni accessorie si eseguiscono come nel metodo di HAMMARSTEN.

Le **globuline** possono anche essere precipitate, ma molto incompletamente, saturando il liquido con Na Cl, o acidificandolo leggermente con acido acetico e diluendolo con 10-20 volumi di H^2O, o diluendolo così e facendolo attraversare da una corrente di acido carbonico, o dializzando il liquido proteico.

Le **globuline** così ottenute, se debbono servire a scopi analitici, vanno poi purificate, sciogliendole in soluzione di Na Cl 3-5 % o in acqua leggermente alcalinizzata e riprecipitandole con un sale o mediante l'aggiunta di poco acido acetico, più volte.

Le **albumine** si possono ottenere:

o dal filtrato del liquido precipitato con $MgSO^4$ a 30° C., aggiungendovi acido acetico finchè ne contenga l'1 %;

o dallo stesso filtrato, saturandolo con Na^2SO^4 a circa 40° C:

o dal filtrato del liquido precipitato con un egual volume di soluzione satura di $(NH^4)^2SO^4$, saturandolo con cristalli di questo sale.

I precipitati vanno poi purificati, sciogliendoli e riprecipitandoli, e finalmente dializzandoli.

Da una soluzione acquosa non ricca di sali, le proteine possono anche essere precipitate con 5-10 volumi di alcool assoluto: se si filtra rapidamente e si allontana l'alcool mediante l'evaporazione nel vuoto, si possono ottenere le proteine allo stato secco non denaturate, vale a dire ancora solubili, e quindi le si può separare con uno dei processi dianzi descritti.

§ 27. Merita d'esser notato come da tutte queste reazioni resulta evidente la minor solubilità delle globuline e la loro più facile precipitabilità, in confronto delle albumine. Ancora, le globuline possono

più facilmente essere ottenute allo stato cristallino, ed una globulina è quella che fa farte dell'unica sostanza proteica spontaneamente cristallizzabile (l'emoglobina). Sono globuline tutte quelle sostanze che, per azione enzimatica, passano rapidamente dallo stato di soluzione allo stato di corpi coagulati (fibrinogene, miosinogene); e probabilmente anche tutte quelle che concorrono alla costituzione dei complessi molecolari superiori dei corpi proteidi (mucina, ecc.). La maggior tendenza delle globuline ad assumere la forma più stabile della proteina organizzata è dunque fuori d'ogni dubbio; onde noi possiamo certamente considerare questo gruppo di proteine come costituito da sostanze che, quando sono isolate, trovansi in uno stadio intermedio fra la proteina genuina solubile, che rappresenta quasi la generatrice indifferente di tutte le altre, l'**albumina**, e le proteine organizzate nelle formazioni strutturali insolubili dei protoplasmi e dei prodotti di loro differenziazione istogenetica.

§ 28. L'**istone** è una sostanza proteica isolata da KOSSEL dai globuli rossi delle anatre e da LILIENFELD dal **nucleoistone** del timo (un nucleoproteide), e di altri tessuti.

Questa sostanza sciolta in HCl diluito è precipitata dall'NH^3, in un eccesso della quale è insolubile; dà la reazione del biureto a freddo; in soluzione neutra è precipitata dal $(NH^4)^2 SO^4$, $NH^4 Cl$, $Mg SO^4$, $Na^2 CO^3$, NH^3, acqua di calce, $Na OH$, ecc.

Secondo LILIENFELD, l'istone è una sostanza proteica, che ha notevoli proprietà basiche, come resulta dal fatto che con HCl forma una combinazione facilmente solubile in acqua. Esiste in due modificazioni: quella, detta sopra, che è precipitata dall'NH^3 ed è insolubile in $H^2 O$, e un'altra, che è precipitata dall'alcool e dall'etere ed è solubile in $H^2 O$. La prima può essere trasformata nella seconda, sciogliendola in HCl diluito e precipitandola con alcool ed etere.

KOSSEL, che scoprì questa sostanza, la ritenne come un proteoso (donde il nome); ma LILIENFELD ha trovato che è coagulabile dal calore: potrebbe dunque costituire un corpo di passaggio dalle proteine coagulabili ai proteosi.

L'istone sarebbe sempre legato, come base, ad un acido, la nucleina, e sicuramente non è, secondo LILIENFELD, un prodotto artificiale di laboratorio.

Di comune coi proteosi e coi peptoni ha che, introdotto nel sangue di un animale ne impedisce la coagulazione; alla sua presenza nei leucociti sarebbe dovuta, secondo LILIENFELD, la normale fluidità del sangue (ved. COAGULAZIONE DEL SANGUE).

B. — Le proteine denaturate.

§ 29. Con questo nome intendiamo significare uno stato speciale in cui passano le proteine, in seguito all'azione o di sostanze chimiche o di enzimi; uno stato, cioè, in cui esse non sono più solubili nel liquido donde precipitarono.

Tutte le sostanze chimiche, che contraggono combinazioni stabili coi corpi proteici, li denaturano. Ma non è a queste proteine denaturate cui noi vogliamo qui particolarmente accennare, poichè tale denaturazione, come la vera coagulazione da calore, si discosta poco da una profonda alterazione di essi.

Proteine denaturate nello stretto senso della parola noi chiamiamo la **fibrina**, la **miosina**, e i così detti **albuminati acidi e alcalini**.

Ma della fibrina e della miosina ci occuperemo a proposito del sangue e del tessuto muscolare. Onde qui non ci resta che trattare brevemente dei così detti albuminati.

E innanzi tutto desidereremmo vedere abbandonata una volta per sempre questa parola: **albuminati**, che non ha alcuna significazione. Questo nome converrebbe piuttosto, e alcuni lo adoperano (Heidenhain, ecc.), alle proteine native. I così detti albuminati non sono delle combinazioni saline; gli albuminati alcalini o alcalialbuminati, piuttosto che sostanze alcaline, sono dei corpi aventi i caratteri di acidi forti; gli albuminati acidi o acidalbuminati sono dei semplici prodotti d'incipiente scissione delle proteine native, e isolati, hanno appena reazione acida. Per indicare, dunque, solamente che questi prodotti si formano sotto l'azione di un alcali o di un acido, preferiamo di adottare un'espressione indifferente che non pregiudica l'intima natura del corpo, e scegliamo quella di **acidoproteine** e di **alcaliproteine**, e rispettivamente i nomi: acidoalbumine, acidoglobuline, alcalialbumine, alcaliglobuline, ecc.

Il nome di **idroalbumine** proposto da Gautier starebbe a indicare che questi corpi sono prodotti di scissione idrolitica.

§ 30. Le **acidoproteine** e le **alcaliproteine** (**albuminati acidi o alcalini** degli Autori) sono sostanze proteiche resultanti dalle proteine in seguito all'azione sopra di esse di acidi o di alcali concentrati o diluiti.

Le **acidoproteine** si ottengono sciogliendo delle sostanze proteiche in acidi minerali concentrati o facendole digerire per lungo tempo in acidi diluiti, meglio scaldando. Se la sostanza proteica è abbondante e l'acido concentrato, si può ottenere l'acidoproteina in forma di una gelatina più o meno solida; in caso contrario, l'acidoproteina rimane disciolta, non si rapprende in gelatina. Tutti gli acidi

e tutte le sostanze proteiche danno acidoproteine, le quali non sono altro che i primissimi stadi di scissione delle molecole proteiche, con cui si trovano legati gli acidi corrispondenti.

A seconda della natura della sostanza proteica, dell'acido e dell'intensità d'azione di questo su quella, si possono avere diverse acidoproteine, differenti fra loro solamente per caratteri accessori.

Nel primo stadio della digestione cloridro-peptica le proteine si trovano trasformate in acido-proteine, che sogliamo chiamare **sintonine**, nome che da molti è del resto esteso a tutte le acidoproteine, benchè originariamente significasse solo l'acidomiosina.

Le acidoproteine sono solubili in acidi diluiti, insolubili in acqua, in soluzioni di sali neutri, in carbonati e fosfati alcalini.

È notevole il fatto che, a misura che si forma un'acidoproteina, l'acidità del liquido totale diminuisce e finisce per scomparire, essendo l'acido libero aggiunto man mano saturato dalle parti amidate della molecola proteica (GAUTIER).

Scaldando le acidoproteine in HCl 10 % in eccesso, si trasformano gradualmente, dando dei corpi sempre più solubili in alcool diluito.

Le **alcaliproteine** si formano per azione degli alcali sulle proteine, mentre dalla molecola proteica, che contrae vere combinazioni con essi, si stacca, come dicemmo, una parte di N e di S. Le alcaliproteine che così si formano hanno un potere di rotazione specifico superiore.

Se si fanno agire alcali caustici [concentrati o in sostanza sopra soluzioni concentrate di proteine, si ottiene la alcaliproteina corrispondente in forma di una gelatina più o meno solida, che si scioglie scaldando; in caso contrario, le alcaliproteine si formano, ma rimangono sciolte, non si rapprendono in masse gelatinose.

A seconda della specie di proteina e dell'intensità d'azione dell'alcali e della varia specie di questo, si hanno varie alcaliproteine, che però differiscono solamente per caratteri accessori.

Le alcaliproteine sono solubili in alcali diluiti e in acqua di calce, donde le precipitano gli acidi diluiti; sono anche solubili in carbonati e spesso in fosfati alcalini.

Quando si parla di alcaliproteine, s'intende significare sempre ordinariamente i prodotti dell'azione della KOH o della $NaOH$ sulle proteine.

Man mano che si forma l'alcaliproteina, l'alcali libero aggiunto sparisce dal liquido, che tende a diventare neutro; e l'alcaliproteina che si forma assume sempre più carattere acido, così che essa, comparata alla proteina primitiva, satura a peso eguale due volte più d'alcali libero. (Ciò vale per l'ovalbumina, GAUTIER).

La distinzione di una speciale alcaliproteina — col nome di casealbumina —, fatta da GAUTIER, è forse superflua. Questo corpo sarebbe il primo prodotto dell'azione a freddo degli alcali diluitissimi sulle proteine (propriamente sull'ovalbumina); esso non avrebbe ancora sofferto alcun profondo sdoppiamento; solo le catene di anidridi dell'albumina si sarebbero aperte per idratazione. Differirebbe dalle altre alcaliproteine per la sua insolubilità in fosfato sodico e per la difficile solubilità in carbonato sodico 1 % (in carbonato sodico 10 % è insolubile).

DANILEWSKY distinse col nome di **protalbine** un miscuglio di corpi derivati dalle proteine sotto l'azione degli alcali, che si formano per idratazioni successive, con simultanea separazione di Ca, Mg, H^3PO^4 e parte di N e S dalla molecola proteica; sono solubili in alcool diluito e caldo, sono notevolmente acidi e decompongono a caldo i carbonati e gli acetati.

§ 31. Le acido- e alcaliproteine sono quasi insolubili in acqua e in soluzioni diluite di Na Cl neutre, ma sono solubilissime in presenza rispettivamente di piccolissima quantità di acidi e di alcali. Le soluzioni di alcaliproteine fatte presso che neutre non coagulano al calore, se non vi s'aggiunge una sufficiente quantità di sale neutro. Le acidoproteine, che non coagulano mai al calore, precipitano quando le loro soluzioni sono neutralizzate con un alcali; e, viceversa, le alcaliproteine precipitano quando le loro soluzioni sono neutralizzate con un acido.

Un' acido- o alcaliproteina, sciolta in un liquido acido, è facilmente precipitata, saturandone la soluzione con Na Cl o con $(NH^4)^2 SO^4$, ecc.; se, invece, è sciolta in un alcali, a seconda della quantità di questo, è difficilmente o punto precipitata dal Na Cl in sostanza.

Relativamente agli acidi minerali e ai sali metallici, le soluzioni quasi neutre di alcali- o acidalbumine si comportano come le proteine, anzi come le globuline.

Parecchi fatti stanno a dimostrare che le alcaliproteine sono sostanze in cui la denaturazione è più avanzata di quello che non sia nelle acidoproteine. Quando si precipita un'alcaliproteina dalla sua soluzione alcalina con un acido, e poi la si ridiscioglie in un eccesso dello stesso, non la si è per ciò trasformata in acidoproteina. Invece è possibile trasformare un'acidoproteina in alcaliproteina, sciogliendola in alcali forte. Dall'alcaliproteina, infatti, cui manca una parte dell' N e dello S della proteina primitiva, non si può passare a una sostanza che rappresenta un semplice prodotto di scissione idrolitica della proteina, qual'è l'acidoproteina.

Le alcaliproteine inoltre agiscono come acidi forti, tanto che possono sciogliersi in acqua, in presenza di $Ca CO^3$, dal quale liberano l'CO^2, ciò che non fanno le acidoproteine.

Acido- e alcaliproteine, a freddo, si formano molto lentamente per l'azione di acidi o di alcali diluiti, e si formano tanto più difficilmente quanto maggiore è la quantità di sali sciolti nel liquido. Solo alcune proteine muscolari si trasformano facilmente in acidopro-

teine anche in presenza di molti sali e per azione di acidi diluitissimi.

Le acido- e alcaliproteine hanno molti caratteri comuni con altre sostanze proteiche, dalle quali non è sempre facile distinguerle.

Le **acidoproteine** differiscono dalla miosina per la loro insolubilità in NH^4Cl, dalle alcaliproteine perchè sono insolubili in soluzioni diluite di fosfato sodico, perchè non liberano l'CO^2 dai carbonati alcalini e terrosi e perchè sono incoagulabili.

Le **alcaliproteine,** che hanno alcuni caratteri in comune con i nucleoproteidi, se ne distinguono perchè non lasciano residuo nella digestione cloridro-peptica, perchè non contengono P in così grande quantità e non producono coagulazione intravasale.

C. — Le nucleoalbumine.

§ 32. **Classificazione delle sostanze proteiche complesse.** — Nel dominio delle sostanze così dette **nucleiniche** esisteva fino a qualche anno addietro una grande confusione, per il fatto che alcuni autori davano il nome generico di **nucleoalbumine** a tutte quelle sostanze proteiche che, durante la digestione cloridropeptica, dànno un residuo fosforato insolubile, mentre altri già cominciavano ad introdurre la distinzione fra **nucleoalbumine** e **nucleoproteidi,** e s'è visto recentemente il Neumeister comprendere sotto l'unica categoria di **proteidi** tutte le dette sostanze.

Noi vogliamo cercare di fare una classificazione razionale di esse, basata sopra dati analitici bene accertati e costanti, seguendo i concetti di Kossel e di Hammarsten, che hanno il merito di aver molto contribuito a districare questo problema.

Per **nucleine** (*nucleine vere* di Kossel), innanzi tutto, intendiamo un gruppo di sostanze proteiche, le quali dànno, come prodotti di scissione, le basi nucleiniche.

Per **pseudonucleine,** invece, quelle sostanze che, pur essendo fosforate, non dànno come prodotto di scissione diretta delle basi nucleiniche, ma delle proteine fosforate, della specie di quelle ottenute da Liebermann, facendo agire l'acido metafosforico sulle proteine native disciolte. Queste pseudonucleine simulano, nel loro comportamento, le nucleine, cui somigliano molto in caratteri accessori di solubilità, ecc.

Stabilita questa distinzione fondamentale, riferentesi al nucleo fosforato dei corpi proteici complessi, chiameremo

nucleoalbumine o meglio **nucleoproteine**, quelle sostanze proteiche fosforate, risultanti dalla combinazione di proteine e di un nucleo fosforato, le quali, come la caseina, durante la digestione peptica dànno un residuo di pseudonucleina, e

nucleoproteidi, quelle sostanze ancora più complesse che, durante la digestione peptica, dànno un residuo insolubile di nucleina, e nell'ulteriore decomposizione, come prodotti di scissione di questa, delle basi allossuriche.

Se non che, non tutte le sostanze proteiche complesse possono essere aggruppate in queste due sole categorie. Dando il nome di

proteidi a tutte queste (eccettuate le nucleoproteine), distingueremo col nome di

nucleoproteidi le sostanze sopra indicate; col nome di

glicoproteidi, quelle sostanze che dànno come prodotto di scissione, durante la loro cottura con acidi minerali diluiti, degli idrati di carbonio, accanto a proteine coagulabili; col nome di

fosfoglicoproteidi, quelle che si comportano come le precedenti, ma dànno anche, durante la digestione peptica, un residuo fosforato, dal quale però non possono ottenersi delle basi nucleiniche; e col nome di

nucleoglicoproteidi, quelle altre, il cui residuo insolubile, nell'ulteriore decomposizione, fornisce delle vere basi nucleiniche o allossuriche.

Se noi pensiamo, inoltre, che le **nucleine** risultano dalla combinazione di proteine con l'acido nucleinico, che sono cioè sostanze proteiche già molto complesse, possiamo benissimo noverarle fra i **proteidi** nella classificazione generale.

Resterebbe ad assegnare un posto alle **lecitalbumine** di LIEBERMANN. Ora, se si parte dal principio che esse sono semplicemente delle proteine contenenti un nucleo fosforato, si potrebbe questo considerare come una pseudonucleina, e noverare le lecitalbumine fra le nucleoalbumine. Ma a noi sembra più giusto noverarle fra i proteidi, che vogliamo considerare come sostanze risultanti dalla combinazione di proteine con nuclei affatto estranei e differenti, siano essi un nucleo pigmentato (emoglobine), o carboidrato (glicoproteidi), o nucleinico (nucleoproteidi), o **grasso-fosforato** (**lecitalbumine**).

Vedremo che una quantità di altre sostanze studiate in questi ultimi anni e che sono state introdotte con nomi nuovi (**nucleoistoni, nucleoni**) non sono da considerarsi come nuovi sotto-gruppi, come specie chimiche differenti; e vedremo ancora come molte sostanze descritte quali corpi preesistenti nei protoplasmi cellulari, molto probabilmente non rappresentano che il nucleo proteico di questi complessi proteidi, che si è scisso durante i trattamenti della sostanza.

§ 33. **Nucleoalbumine.** — Secondo quanto abbiamo detto sopra, le **nucleoalbumine** sono sostanze proteiche, le quali risultano da proteine combinate con pseudonucleine, cui si deve il residuo di acido fo-

sforico che esse dànno quando sono calcinate con KOH e $NaNO^3$. Nella digestione peptica lasciano un residuo insolubile, che però non fornisce basi nucleiniche.

Si trovano nei protoplasmi delle cellule vegetali e animali, e nei succhi e secreti solo come prodotto di scomposizione cellulare. Sono fortemente acide, tanto che mettono in libertà l'CO^2 dai carbonati; quasi insolubili in acqua, facilmente solubili per l'aggiunta di poco alcali (KOH, $Ca(OH)^2$), precipitabili dai liquidi alcalini mediante acidi diluiti. Le loro soluzioni acquose neutre non coagulano al calore, nemmeno se si acidifica il liquido leggermente.

Differiscono dalle globuline, cui sono molto affini, perchè non sono solubili in soluzioni di sali neutri, e per il contenuto in P.

Il prodotto di loro scomposizione fosforato, distinto col nome di **pseudonucleina**, secondo LIEBERMANN, risulta dalla combinazione di proteina con acido metafosforico.

Le nucleoalbumine, che sono anche caratterizzate dalla loro proprietà di unirsi con composti minerali (Fe, sali di Ca, ecc.), che in parte contribuiscono alla loro solubilità, presentano una composizione centesimale appena differente da quella delle proteine, poichè il loro nucleo fosforato costituisce una piccola parte dell'intiera molecola. Sembra, però, che di regola contengano un po' meno S delle proteine.

Le combinazioni delle nucleoalbumine con gli alcali o con le terre alcaline sono solubili in H^2O, anche in assenza di sali neutri; in tale stato non precipitano con la dialisi. Ma se con un acido (acetico) si sottrae loro la base, tosto esse precipitano; un eccesso di acido le ridiscioglie.

Relativamente alle reazioni di precipitazione, esse si comportano come le globuline.

Anche le reazioni colorate non differiscono sostanzialmente da quelle delle sostanze proteiche in generale.

L'unica prova che distingue con sicurezza le nucleoalbumine [1]) dai nucleoproteidi consiste in ciò, che il residuo insolubile che lascia nella digestione peptica non fornisce basi nucleiniche.

§ 34. **Le caseine.** — La nucleoalbumina tipica, che noi meglio conosciamo, è la **caseina.**

Le proprietà della caseina possono essere studiate o nella sua soluzione naturale, il latte, o in soluzioni artificiali. Qui noi ci occuperemo di queste ultime.

Preparazione della caseina. — HAMMARSTEN ha indicato due processi per preparare soluzioni artificiali di caseina. Il primo consiste

[1]) La maggior parte delle nucleoalbumine descritte come sostanze estratte da vari parenchimi cellulari sono dei nucleoproteidi (ved. in seguito).

essenzialmente nel precipitare la caseina saturando il latte con Na Cl alla temperatura ordinaria, ridisciogliere nell'acqua alcalinizzata il precipitato, e poi ripetere le precipitazioni e le soluzioni più volte per purificare la sostanza. Migliore è il secondo metodo, il quale consiste nel diluire il latte con 4 volumi d'H^2O, nel precipitare la caseina aggiungendo dell'acido acetico finchè il liquido totale ne contenga 0,75 — 1 ‰, e ridiscioglierla in acqua leggermente alcalinizzata con Na^2CO^3, o Na OH o $Ca(OH)^2$. Precipitandola e ridiscioglendola più volte, la sostanza è purificata. La massima parte del grasso rimane sul filtro nella prima precipitazione; il rimanente può essere estratto con alcool ed etere. Se si vuole avere una soluzione neutra di caseina, si può neutralizzare esattamente con acido fosforico molto diluito la sua soluzione alcalina. Ma è sempre bene, per sciogliere il precipitato di caseina ottenuto mediante l'aggiunta di acido acetico, aggiungere la soluzione diluita di Na OH, per esempio, a goccia a goccia, tritando energicamente la sostanza in un mortaio, e aver cura che la soluzione non diventi mai alcalina. Se, operando in questo modo, non si ottiene un filtrato limpido, vuol dire che nel preparato sono rimasti dei sali di Ca; allora è bene ripetere l'operazione. La soluzione acquosa neutra di **sodiocaseina** si conserva a lungo in una boccia ben chiusa, specialmente se vi si aggiunge un po' di cloroformio. Se si mette a contatto di una soluzione di Na^2CO^3, la caseina precipitata si scioglie egualmente, mentre si sviluppa del CO^2 libero. Ma le soluzioni così ottenute sono differenti da quelle delle alcaliproteine, perchè esse hanno sempre una reazione neutra o leggermente acida (se l'aggiunta dell'alcali è stata fatta con parsimonia). Ciò dimostra che la caseina, che ha i caratteri di un acido bibasico, per rimanere in soluzione ha solamente bisogno di saturare le sue punte acide, non della presenza di alcali liberi, come le alcaliproteine, che precipitano non appena si sia neutralizzato esattamente il liquido in cui si trovano disciolte.

Wroblewski ha finalmente preparato la caseina pura, precipitando la **calciocaseina** naturale del latte di mucca con $(NH^4)^2SO^4$, lavando il precipitato con una soluzione 30 % dello stesso sale, sciogliendola poi in acqua pura, e allontanando il grasso mediante la centrifugazione e l'etere. Trasformava poi la calciocaseina così ottenuta in sodiocaseina, precipitando la caseina dalla soluzione acquosa con acido acetico, sciogliendo il precipitato in Na OH diluita, e preparava la caseina pura precipitandola dalla sua soluzione sodica con acido acetico, lavando il precipitato con H^2O, alcool, etere, e disseccandolo nel vuoto sull'H^2SO^4.

Proprietà della caseina. — La caseina non è precipitata mediante la diluzione delle sue soluzioni, nè dà una corrente di CO^2, purchè la soluzione non abbia reazione acida, nè dializzando i soli sali al-

calini del latte, bensì quando la dialisi è talmente protratta che si allontanano anche i sali alcalino-terrosi (H. SCHMIDT). Il $(NH^4)^2 SO^4$, il $Mg SO^4$, il $Cu SO^4$, il Na Cl, aggiunti fino a saturazione, la precipitano, i primi tre soli completamente; lo stesso fanno gli acidi diluiti aggiunti in una proporzione determinata, giacchè aggiunti insufficientemente non la precipitano completamente, aggiunti in piccolo eccesso la ridisciolgono, almeno parzialmente. Queste soluzioni acide sono poi di nuovo precipitate da un grande eccesso di acidi minerali. La presenza di sali neutri rende più difficile la preparazione della caseina mediante il trattamento con gli acidi, di cui bisogna aggiungere per ciò una quantità maggiore.

Pura, è insolubile in acqua e in soluzioni di Na Cl e di $Mg SO^4$; solubile negli alcali, nelle terre alcaline, nei fosfati alcalini, in soluzioni 1 % di fluoruro di sodio, ossalato d'ammonio e di potassio (ARTHUS). Il calore non la coagula, nemmeno in presenza d'una gran quantità di solfato d'ammonio o d'altro sale neutro. L'alcool precipita, ma non denatura la caseina.

Ma le soluzioni di caseina in Na Fl differiscono dalle altre soluzioni alcaline, terrose, fosfoalcaline, ecc. di caseina per due caratteri: perchè da esse la caseina è precipitabile mediante la diluzione e il CO^2, e perchè non ne è precipitabile col Na Cl aggiunto fino a saturazione. Si comportano, però, come le altre verso il solfato d'ammonio e di magnesio e verso gli acidi.

Le soluzioni di caseina, in presenza di una quantità sufficiente di sali di Ca, sono coagulate dal fermento labico o **chimosina.**

Se mancano i sali di Ca, la caseina non coagula; ma viene talmente modificata da questo fermento, che con l'aggiunta dei detti sali coagula subito, anche se l'enzima è stato distrutto, per esempio, col calore. (Per notizie più estese, ved. LATTE).

Il modo di comportarsi della caseina verso i sali di Ca ci chiarisce in parte lo stato in cui si trova nel latte. La caseina infatti si scioglie in acqua in presenza di $Ca CO^3$, perchè ne libera il CO^2 fissando la base. Inoltre se si scioglie la caseina in acqua di calce e poi si neutralizza esattamente il liquido con acido fosforico molto diluito, la caseina rimane apparentemente in soluzione, perchè un precipitato visibile non si forma nè di caseina nè di fosfato di calcio; ma realmente essa trovasi allo stato di forte rigonfiamento, come nel latte, e conferisce un aspetto opalescente al liquido, la cui opacità aumenta col calore; sicchè bisogna ammettere che l'aspetto fisico del latte è dovuto in parte alla presenza della calciocaseina in quello stato speciale di forte rigonfiamento che caratterizza in generale le soluzioni delle combinazioni calciche di questa nucleoalbumina.

Allo stato secco, la caseina si presenta come una polvere fine,

bianca, la quale non perde la sua solubilità nemmeno se è scaldata a 100° C. e più.

La caseina del latte di mucca ha la composizione centesimale (HAMMARSTEN):

C 53,0; H 7,0; N 15,7; S 0,8; P 0,85; O 22,65;

quella del latte di donna è alquanto differente (WROBLEWSKI):

C' 52,24; H 7,32; N 14,97; S 1,11; P 0,68; O 23,66.

Sembra che vi siano diverse caseine, non ancora studiate.

Il potere di rotazione specifico della caseina è variabile; quello di una soluzione neutra è

$$\alpha (D) = -80^0.$$

Se si mescola una parte di caseina pura con una parte (in peso) di $Ca\,CO^3$ e cento parti d'$H^2\,O$ a 35°-40° C., e si filtra, il filtrato contiene una caseina calcica in soluzione acquosa, di reazione leggermente alcalina, che si decompone per l'azione degli acidi. La caseina calcica secca si presenta sotto forma di scaglie splendenti solubili in $H^2\,O$. Se si aggiunge ad una soluzione di caseina calcica una soluzione di albuminato di ferro 1 %, si ottiene un precipitato bianco, che, ossidandosi, prende una colorazione rosso-chiara, è insolubile in $H^2\,O$, inodoro, insipido, solubile con l'aggiunta di NH^3. A questa sostanza il DAWYOLOW, che l'ha preparata, ha dato il nome di **nucleo-albuminato di ferro,** e contiene 5,2 % di ossido di ferro.

BONDZYNSKI e ZOJA, ossidando la caseina con permanganato potassico, trovarono che il processo d'ossidazione decorre per la caseina in modo speciale.

Il contenuto percentuale di C e specialmente d'H sono molto minori nel prodotto d'ossidazione che nella caseina; anche lo S diminuisce e il P non si separa, come risulta dalla seguente tabella.

Tabella ventisettesima.

	Esp. A.		Esp. B.	
	Frazione I.	Frazione II.	Frazione I.	Frazione II.
C %	51,05	49,11-49,53	51,92-52,07	50,03-49,72
H »	7,10	6,63-6,65	6,74-6,81	6,39-6,48
N »	14,90	14,99	14,63-14,91	14,74-14,63
S »	—	—	0,760	0,714
P »	—	—	0,702	—
O »	—	—	—	—

Il rapporto $\frac{C}{N} = 3,38$, cioè identico a quello (3,38) che per la caseina si deduce dalle analisi di HAMMARSTEN.

Nella digestione cloridro-peptica la caseina lascia indietro un residuo di pseudonucleina, che può variare dall'1,29 al 21,1 % della sostanza digerita (MORACZEWSKI), e il cui contenuto in P può anche variare molto (0,88 — 6,86 %. Non sembra però che la pseudonucleina contenga tutto il P della caseina.

Secondo DANILEWSKY la caseina risulta di due o tre sostanze distinte: la **caseoalbumina** e le **caseoprotalbine**. La caseina di HAMMARSTEN sarebbe la caseoprotalbina di DANILEWSKY. Queste divergenze sarebbero dovute al metodo diverso di preparare la sostanza pura.

Le sostanze **caseoprotalbiche** costituirebbero circa il terzo del peso totale della caseina. Per estrarle si fa bollire la caseina in alcool 50 % e si filtra a caldo; nel filtrato, col raffreddamento, precipitano in grossi fiocchi bianchi. La caseoprotalbina è insolubile in acqua, ha reazione fortemente acida; ad essa la caseina dovrebbe le sue proprietà acide. Questo corpo risulterebbe a sua volta d'una **caseoprotalbina** e d'una **caseoprotalbinina**. La **caseoalbumina**, che si ottiene dal residuo dopo l'estrazione della caseoprotalbina, non ha proprietà acide; è solubile in soluzioni alcaline e nelle soluzioni diluite degli acidi minerali. Mentre la caseoalbumina lascia ceneri costituite di calce e di acido fosforico, la caseoprotalbina non lascia ceneri in seguito alla sua combustione (DANILEWSKY, C. SCHEPILOFF).

§ 35. Fra le nucleoalbumine nel senso moderno della parola è da noverarsi anche l'**ovovitellina**.

L'ovovitellina si ottiene dal tuorlo estratto con alcool ed etere; viene poi digerita in succo gastrico artificiale, per cui lascia un residuo, che è la sua pseudonucleina, la quale contiene molto Fe; onde BUNGE le dette il nome di ematogene (ved. UOVO).

§ 36. **Le pseudonucleine**. — Le **pseudonucleine** si ottengono durante la scissione operata dal succo gastrico delle nucleoalbumine e dei fosfoglicoproteidi (ved. in seguito); ma, a differenza delle nucleine vere, finiscono per essere lentamente digerite da un succo gastrico artificiale molto attivo.

Le pseudonucleine contengono una considerevole quantità di P, che può essere separato in forma di acido metafosforico dagli acidi minerali (LIEBERMANN).

Esistono diverse pseudonucleine: alcune forniscono solamente sostanza proteica e P e corrisponderebbero al « nucleo prostetico » (ved. in seguito) dei nucleoproteidi o delle nucleine; altre forniscono sostanza proteica, P e una sostanza riducente, e corrisponderebbero al « nucleo prostetico » dei gliconucleoproteidi.

Sono sostanze amorfe, insolubili in H^2O, alcool, etere, solubilissime in alcali diluiti; sono precipitate dagli acidi diluiti. Dànno le reazioni delle sostanze proteiche.

Non si sa ancora bene in quale stato si trovi il P nelle pseudonucleine, se esso cioè sia semplicemente combinato nella molecola proteica, o, come nell'acido nucleinico delle nucleine vere, faccia parte di un acido organico distinto, che poi, combinandosi con le proteine,

darebbe le pseudonucleine. ALTMANN preparò dal rosso d'uovo un acido che erroneamente credette essere acido nucleinico, poichè esso non dà basi nucleiniche; esso potrebbe piuttosto essere chiamato **acido pseudonucleinico** (**paranucleinico** di KOSSEL), considerandolo non come identico, ma come analogo all'acido nucleinico vero. Anche WILLDENOW ottenne dalla pseudonucleina della caseina una sostanza fosforata precipitante le proteine. KOSSEL però crede che per ora dobbiamo contentarci di ammettere che le pseudonucleine siano costituite o da proteina e acido pseudonucleinico, o da proteine e un qualunque acido fosforico inorganico (per esempio il metafosforico di LIEBERMANN). MILROY ha studiato meglio quest'acido scoperto da ALTMANN e resultante dalla scissione della pseudonucleina del rosso d'uovo.

Proprietà dell'acido pseudonucleinico. — Esso precipita la sintonina in una soluzione 2 % di acido acetico, in forma di fiocchi bianchi, che sono disciolti dall'HCl 0,25 %; non dà basi nucleiniche; dà la reazione del biureto, ma non quella di MILLON; non precipita con acido acetico e ferrocianuro potassico. Bollito a lungo in acqua o in soluzione acetica, perde la proprietà di precipitare le proteine, e nel liquido si trova dell'acido fosforico.

Preparazione della pseudonucleina. — Per preparare la pseudonucleina si parte da una soluzione di caseina, o d'ovovitellina o d'ictulina, che si sottopone alla digestione cloridro-peptica per 24 ore. Si separa, filtrando, il precipitato, lo si lava con acqua, e lo si purifica sciogliendolo in alcali diluiti e riprecipitandolo con acidi anche diluiti (HAMMARSTEN).

D. — I PROTEIDI.

§ 37. **Generalità.** — Secondo la definizione da noi data sopra, per **proteidi** intendiamo delle sostanze proteiche complesse, resultanti dalla combinazione di una o più molecole di proteine native con uno o più nuclei non proteici o proteici nucleinici. Così i **nucleoproteidi**, le **nucleine** *sensu strictiori* (proteine + nucleine o acido nucleinico), i **glicoproteidi** (proteine + idrati di carbonio), i **fosfoglicoproteidi** (proteine fosforate + idrati di carbonio), i **nucleoglicoproteidi** (proteine + idrati di carbonio + nucleine), le **emoglobine** (proteine + ematina), le **lecitalbumine** (proteine + lecitina), sottogruppi che noi studieremo ora nell'ordine enunciato, appartengono tutti a questa grande categoria di corpi proteici.

La loro importanza biologica è straordinariamente grande. Essi costituiscono lo scheletro morfologico d'ogni protoplasma e d'ogni nucleo, rappresentando la parte organizzata fissa dell'elemento cellulare, nella quale si svolgono i fenomeni della vita. Se si pensa

l'enorme complessità della molecola d'un proteide, si può forse rimanere ammirati, ma non maravigliati, della molteplicità di funzioni svariate che in essa possono successivamente e simultaneamente aver luogo. Bisogna pensare che ai molti gruppi atomici che abbiamo visto esistere nella molecola proteica, qui si aggiungono o un gruppo carboidrato speciale solo o insieme con un gruppo nucleinico, o un gruppo pigmentato ferruginoso, ecc., e che tutti questi nuovi gruppi hanno proprietà particolari, ben differenziate, benchè in parte ancora ignote.

Questi corpi che si son venuti costruendo per via di polimerizzazione e di addizione di nuovi gruppi atomici estranei, aumentando in complessità, hanno perduto quasi affatto la solubilità in liquidi neutri o leggermente acidi, ed essi stessi hanno acquistato caratteri fortemente acidi, che loro permettono di fissare altre sostanze. Se, però, l'insolubilità di questi corpi assicura la stabilità degli elementi morfologici e spiega i maravigliosi ordinamenti strutturali dei nuclei e degli stromi citoplasmatici, essi rimangono pur sempre dei corpi colloidi in uno stato di rigonfiamento, che permette lo svolgersi delle azioni chimiche e chimico-fisiche più svariate.

Essi rappresentano forse in modo esclusivo la sostanza organizzata, stabile nel suo incessante modificarsi, donde scaturisce la vita; ad essi i succhi organici apportano i materiali per la loro incessante ricostruzione.

Il gruppo dei proteidi s'è venuto in questi anni accrescendo di molto, perchè una quantità di sostanze descritte prima con altri nomi, per cui sembrava dovessero appartenere ad altri gruppi, si è riconosciuto dovere far parte di questo.

Hoppe-Seyler, che introdusse il nome di **proteidi**, ebbe chiaro il concetto della loro natura, paragonandoli con i **glicosidi**, in cui però il glicosio non conferisce la sua impronta alla sostanza come il nucleo prostetico al proteide. Kossel infatti propose di distinguere col nome di **gruppi prostetici**, i gruppi estranei combinati col **nucleo proteico**, dal quale si distaccano nei trattamenti chimici, permettendo di riconoscere e classificare il proteide a seconda della loro natura particolare. Kossel attribuisce poi una grande importanza a questi gruppi prostetici, che egli considera come « gli strumenti delle più importanti funzioni vitali », e ai quali egli attribuisce perfino la formazione dei gruppi proteici.

§ 38. **Nucleoproteidi.** — Sono proteidi che nella digestione peptica lasciano un residuo insolubile di vera nucleina, la quale, bollita con acidi minerali diluiti, dà una sostanza proteica e le così dette basi nucleiniche.

Costituiscono lo stroma dei nuclei e in parte anche quello del protoplasma delle cellule. Nei liquidi organici non compariscono che come prodotti di distruzione cellulare.

I nucleoproteidi sono sostanze acide, che si combinano facilmente cogli alcali, dando delle soluzioni neutre, nelle quali il calore produce coagulazione, a circa 65° C. Anche sospesi in acqua pura o in acqua acidulata, sono coagulati dal calore, e perciò denaturati. Sono precipitati dall'acido acetico e cloridrico; ma il precipitato si scioglie più o meno difficilmente in un eccesso di acido. Sono solubili in $Na^2 CO^3$, formando dei liquidi viscosi, specialmente se il materiale è stato preparato col metodo del Na Cl (ved. in seguito). Sottoposti all'azione dell'$H^2 SO^4$ diluito, a caldo, e poi soprassaturato il filtrato freddo con NH^3 e trattato con soluzione ammoniacale di $Ag NO^3$, si osserva la reazione propria dei corpi xantinici. **Questa è l'unica prova, oltre quella della coagulabilità al calore, che differenzi sicuramente i nucleoproteidi dalle nucleoalbumine.**

Una delle proprietà più singolari dei nucleoproteidi (ad eccezione di quello della bile) è che, disciolti in soluzioni di $Na^2 CO^3$ (1-2 %) e iniettati nei vasi di un animale, producono subito la morte, coagulando più o meno intensamente il sangue (HALLIBURTON).

I nucleoproteidi presentano le reazioni colorate delle ordinarie sostanze proteiche, e verso i più comuni reagenti si comportano in modo molto analogo alle globuline.

L'affermazione di WRIGHT che il nucleoproteide da lui preparato presenta una reazione rosso-rosa del biureto non è stata confermata da HALLIBURTON, che ha sempre ottenuto la reazione violetta delle sostanze proteiche.

Nessun fondamento ha l'opinione che la sostanza proteica contenuta nei nucleoproteidi) sia un peptone (WRIGHT, LILIENFELD); essa è, secondo HALLIBURTON, una globulina. Dicemmo però che l'istone del nucleoistone (che è un nucleoproteide) ha delle analogie coi proteosi.

§ 39. Riporto qui una lunga tabella di V. LIEBLEIN, in cui si leggono le une accanto alle altre le reazioni differenziali dei nucleoproteidi (principalmente del nucleoproteide della bile di bove), delle proteine dell'albume d'ovo, dei proteosi e del peptone. Vi ho aggiunto alcune reazioni riguardanti altri nucleoproteidi (quelli studiati da HALLIBURTON), che sono estratti dagli organi.

Tabella ventottesima.

	Reagenti	Ovoproteine	Proteosi (pept. WITTE)	Nucleoproteide della bile	Nucleoproteidi dei tessuti
1.	Tannino (ALMÉ).	(Noto)	Forte precipitato.	Intorbidamento che cresce lasciando riposare.	—
2.	Acido fosfovolframico + H Cl.	(Noto)	Abbond. precipitato.	Forte precipitato.	—
3.	Joduro mercuropotassico + H Cl (R. di BRUECKE).	(Noto)	Forte precipitato.	Minimo intorbidamento.	—
4.	Acido metafosforico.	(Noto)	(Noto)	Intorbidamento; dopo lungo riposo, precipitato fioccoso.	—
5.	Acido salicilsolforico.	Abbond. precip. fioccoso.	Precipitato finemente fioccoso	Lieve intorbid., che aumenta col riposo.	—
6.	Acido acetico.	(Noto)	(Noto)	Precip. fioccoso difficilmente solubile in un eccesso di reattivo.	—
7.	Acido tricloroacetico (R. di FRAENKEL).	(Noto)	Forte intorbid. per abbond. aggiunta di reattivo; dopo il riposo, precipit. fioccoso.	Debole intorbid., che cresce col riposo.	—
8.	Soluzione satura di Na Cl + H Cl (R. di ROBERT).	(Noto)	Forte intorbidam.	Intorbidamento che aumenta col riposo.	—
9.	Wolframato sodico 1 p. + acido tartarico 5 p. in 40 cm.^{3} H^2O (R. di JAWOREWSKI).	Abbondante precipitato.	Intorbid. abbastanza forte.	Intorbidam. in gran parte solubile nell'eccesso di reattivo.	—
10.	Wolframato sodico 20 %, acido citrico 60 %, acqua aa p. e. (R. di OLIVER).	Forte intorbidamento.	Intorbidam. discretamente forte insolubile o quasi in eccesso di reattivo.	Intorbidamento solubile in un eccesso del reattivo.	
11.	$HgCl^2$ gr. 8 + ac. tartarico gr. 4 + glicerina g. 20 + acqua cm.^{3} 200 (R. di SPIEGLER).	Intorbidam. anulare nelle sol. forti, debole e dopo lungo riposo nelle sol. diluite.	Lieve intorbid. anulare dopo lungo riposo.	Precipitato fioccoso notevole.	—
12.	$HgCl^2$ 1 % 6 p. + acido acetico 1 p. (R. di ZOUCHLOS).	Forte precipitato nelle soluzioni non troppo diluite.	Nessuna reazione.	Forte intorbid. e dopo lungo riposo precipitato fioccoso.	—
13.	Joduro di potassio e di bismuto + H Cl.	(Noto)	Precipitato fioccoso abbondante.	Debole intorbid.	—
14.	$CuSO^4$ + KOH.	Color violetto.	Color rosso-rosa.	—	Color violetto.
15.	$CoSO^4$ + KOH (R. di GNEZDA).	Color porpora-eliotropio. Nessun precipitato.	Colore rossiccio-porpora, rapidam. cangiante in rosso-bruno.	—	Color porpora-eliotropio, come quello delle proteine.

§ 40. Nucleo-proteidi sono la massima parte delle sostanze estratte dai protoplasmi cellulari, le quali hanno ricevuto nomi diversi, e cioè: **istofibrinogene** (WOOLDRIDGE), **citofribinogene** (WRIGHT), **citoglobina** o **preglobulina** (ALEX. SCHMIDT), **nucleoistone** (KOSSEL e LILIENFELD), **citoglobulina** (HALLIBURTON), **nucleoalbumina** (PEKELHARING). Tutte queste sostanze, i cui caratteri coincidono essenzialmente fra loro, costituiscono uno stesso nucleoproteide, o varietà

appena distinguibili di esso, con gli odierni mezzi d'esame. Anche le **nucleoalbumine** di HALLIBURTON [1]) sono dei nucleoproteidi.

Noi diremo prima dei processi migliori per isolare questi nucleoproteidi, e poi dei caratteri peculiari di alcuni di essi.

§ 41. **Preparazione dei nucleoproteidi.** — Esistono più metodi per estrarre i nucleoproteidi dai tessuti:

1. **Metodo di** WOOLDRIDGE. — L'organo o tessuto finemente diviso è estratto con acqua distillata per 24 ore. (Il nucleo-proteide passa nel liquido forse con l'aiuto dei sali dell'organo). Si filtra. Nel filtrato opalescente l'acido acetico (in soluzione 3 %) aggiunto in proporzione di 2-5 cm.^{3} per 1000 cm.^{3} di estratto, produce prima un opacamento e dopo 12-24 ore un precipitato fioccoso, che si deposita nel corso di poche ore e viene poi raccolto e lavato con acqua distillata acidulata e poi con acqua pura.

2. **Metodo di** HALLIBURTON. — L'organo o tessuto finemente diviso è tritato in un mortaio con un terzo del suo volume di Na Cl in polvere (il Mg SO^4 o altri sali agiscono egualmente, ma è preferibile il Na Cl). Si aggiunge pochissima H^2O e si pesta la massa viscosa, glutinosa che si forma. Quindi la si butta in un gran volume di H^2O, e si scuote energicamente il liquido. Le albumine rimangono disciolte, le globuline insieme coi cenci del tessuto precipitano al fondo del vaso, mentre il nucleoproteide rimane prima sospeso in forma di filamenti tenaci, che poi si raccolgono alla superficie in una schiuma coerente, che va subito separata e purificata in uno dei seguenti modi:

a) Il precipitato ottenuto col 1.° metodo viene sciolto in soluzione diluita (1-2 %) di Na^2CO^3, ed è poi riprecipitato con acido acetico. Si ripete l'operazione più volte, ma la sostanza finisce per rimanere alterata, come hanno dimostrato le analisi e la diminuzione del suo potere coagulante;

b) Il precipitato ottenuto col 2.° metodo viene di nuovo trattato con Na Cl e di nuovo precipitato nell'H^2O. L'operazione è ripetuta più volte, allontanando sempre i piccoli straccetti di tessuto aderenti al precipitato, ma non troppe volte, perchè altrimenti il nucleoproteide ne rimane sensibilmante alterato.

Nella sostanza così ottenuta rimane del protogono, che può essere allontanato trattandola con alcool caldo, che elimina anche il grasso e la colesterina, le cui ultime traccie sono allontanate lavando con etere bollente. I fosfati sono eliminati lavando con acqua acidulata con acido acetico o cloridrico. Per purificare la sostanza si può anche adoperare il cloroformio invece dell'alcool.

---

[1]) Nelle pubblicazioni dell'A. fino a qualche anno addietro.

È singolare che mentre il timo, i gangli linfatici, i reni, il corpo tiroide, la milza, i testicoli, il midollo rosso delle ossa dànno un nucleoproteide con entrambi i metodi, il fegato, i tessuti nervosi e la bile di bove non lo dànno che quando sono trattati con l'acido acetico.

I nucleoproteidi preparati col metodo di WOOLDRIDGE si presentano in forma di precipitati fioccosi, quelli preparati col metodo di HALLIBURTON o del Na Cl in forma di filamenti coerenti e viscosi, che, dopo il trattamento con l'alcool, ricordano molto da vicino i filamenti di fibrina. Differenze chimiche però non esistono fra loro.

HALLIBURTON ha trovato che

il nucleoproteide	del	timo	contiene	0,8	%	di P
»	»	rene	»	0,37	»	»
»	»	fegato	»	1,45	»	»
»	»	cervello	»	0,5	»	» .

Sembra che il nucleoproteide preparato col metodo rapido del Na Cl sia meno attivo, probabilmente perchè esso è solamente il corpo generatore del nucleoproteide fortemente coagulante, che si ottiene col metodo lungo dell'acido acetico, alla stessa guisa come i zimogeni contenuti nei protoplasmi cellulari sono i generatori degli enzimi più attivi (HALLIBURTON).

§ 42. Uno dei nucleoproteidi meglio studiati è quello che LILIENFELD ha descritto col nome di **nucleoistone**, e che ha isolato dagli elementi cellulari del timo di bove, dai leucociti dei gangli linfatici, dalle cellule spleniche e testicolari, dove esso costituisce la sostanza proteica principale. Le analisi di questa sostanza, ch'egli prima aveva chiamato **leuconucleina**, lo hanno condotto a stabilire la seguente sua composizione centesimale:

C 48,46; H 7,00; N 16,86; P 3,025; S 0,701; O 23,95.

È una sostanza insolubile in benzolo, alcool, cloroformio, alcool metilico, etere, acido acetico; solubile in acido acetico glaciale, cloridrico e nitrico concentrati, in Na^2CO^3, Na OH, NH^3 e, preparato di fresco, anche in soluzioni di Na Cl e di $MgSO^4$, specialmente in presenza d'un po' d'acido acetico. Dalle sue soluzioni neutre è precipitato dall'acido acetico, dagli acidi minerali (che, in eccesso, lo ridisciolgono), dall'alcool, dal $PtCl^4$, dal $AgNO^3$, dal $HgCl^2$; non è precipitato dal $MgSO^4$ aggiunto in sostanza fino a saturazione.

Per il suo contenuto in P e la sua solubilità differisce da altri nucleo-proteidi, e, digerito in succo gastrico, dà nucleina tipica.

Trattato con 0,8 % H Cl dà una nucleina contenente in media 4,991 % di P, mentre una sostanza proteica detta **istone** da KOSSEL

e LILIENFELD passa in soluzione. Questa nucleina differisce da quella che si stacca durante la digestione peptica, essendo solubile in un eccesso di H Cl.

Il nucleoistone è una sostanza acida. Bollito in soluzione acquosa neutra o leggermente alcalina, dà un coagulo (della sua parte proteica, che si stacca dalla nucleina?); scaldato a lungo con H^2SO^4 dà come prodotti di scissione le basi nucleiniche, e propriamente adenina e ipoxantina; scompone l'H^2O^2.

LILIENFELD prepara il nucleoistone, facendo un estratto acquoso della glandola, che poi filtra e centrifuga per liberarlo dagli elementi cellulari, e in cui precipita il proteide aggiungendo dell'acido acetico. Lo purifica ripetutamente sciogliendolo in soluzione di Na^2CO^3 e riprecipitandolo con acido acetico, e finalmente lavandolo con acqua acidulata, alcool ed etere.

I sali di Ca scindono il nucleoistone in nucleina e istone.

BUECHNER e GALEOTTI hanno estratto rispettivamente dai corpi dei pneumobacilli e dei bacilli della peste bubbonica, mediante il trattamento con soluzione 0,5-1 % di KOH o Na OH, un proteide che presenta i caratteri di un nucleoproteide e che vi si trova in gran quantità. Quello isolato da BUECHNER era piogeno; quello meglio studiato e definito da GALEOTTI produce la coagulazione intravasale ed ha proprietà immunizzanti.

§ 43. **Le nucleine.** — Le **nucleine** si scindono, secondo ALTMANN, sotto l'azione degli alcali, in un acido organico ricco di P, l'**acido nucleinico**, e in una sostanza proteica. Il primo sarebbe il « gruppo prostetico » di questo proteide, la **nucleina** (KOSSEL).

Nucleine aventi questi caratteri sono state trovate nei nuclei dei piociti (HOPPE-SEYLER e MIESCHER), nelle cellule del lievito di birra, nei globuli rossi nucleati, nei leucociti del timo (KOSSEL e LILIENFELD), ecc.

Esse sono molto ricche in P (5,0 %), che si può separare in forma di acido metafosforico (LIEBERMANN).

Dalle ricerche di KOSSEL e NEUMANN resulta che l'acido nucleinico si trova nelle nucleine in uno stato di combinazione più o meno stabile, a seconda degli organi. Infatti, la nucleina di molti organi interni, per es. del pancreas, è una combinazione forte: quella del timo è meno stabile; queste nucleine si scindono nell'acqua di barite, formando nucleinati di bario, difficilmente solubili, mentre le precedenti non si scindono. Finalmente l'acido nucleinico può esistere addirittura non legato, come negli spermatozoi dei salmoni. In questa o nella forma di combinazione labile, esso eserciterebbe forse, secondo KOSSEL, un'azione difensiva a profitto della cellula, legando prodotti proteici tossici, ecc.

Esistono diverse nucleine: alcune, come quelle provenienti dai

nucleoproteidi, dànno solamente, scindendosi, sostanza proteica e acido nucleinico, altre, come quelle provenienti dai gliconucleoproteidi del pancreas e della glandola mammaria, dànno sostanza proteica, acido nucleinico e una sostanza riducente. Ciò dimostra che la sostanza riducente è contenuta nel « gruppo prostetico » dei gliconucleoproteidi.

Come prodotti di scissione dell'acido nucleinico in esse contenuto, tutte le nucleine vere, bollite con acidi minerali diluiti, dànno basi allossuriche. Esse contengono anche Fe, e hanno carattere fortemente acido.

Sono sostanze incolori, amorfe, insolubili o quasi in acqua, alcool, etere, solubili alcune facilmente, altre difficilmente in alcali diluiti; precipitabili dagli acidi diluiti.

Alla proteina che contengono debbono le reazioni del biureto e di MILLON, ch'esse presentano. Sono caratterizzate da una grande affinità per molte sostanze coloranti basiche, proprietà che gl'istologi utilizzano per colorare i nuclei e le sue formazioni.

Secondo LIEBERMANN, sono combinazioni dell'acido metafosforico con una sostanza proteica e con le basi allossuriche. Calcinate con $NaOH$ e $NaNO^3$ o KNO^3, dànno fosfati alcalini.

La composizione centesimale delle nucleine è alquanto diversa: ne diamo qui un esempio, ponendovi accanto la composizione della pseudonucleina del tuorlo.

	Pseudonucleina del tuorlo (Ematogene)	Nucleina del lievito
C	42,11	40,81
H	6,08	5,38
N	14,73	15,98
O	31,05	31,26
S	0,55	0,38
P	5,19	6,19
Fe	0,29	—

Preparazione delle nucleine. — Per preparare le nucleine, si lascia digerire per 24 ore un nucleoproteide in succo gastrico artificiale: si raccoglie il residuo insolubile, lo si lava, lo si scioglie in NH^3 diluita e lo si riprecipita con HCl diluito. Per purificarlo, lo si sottopone più volte alla digestione cloridro-peptica, più volte lo si scioglie e riprecipita in alcali e con acidi diluiti, e finalmente lo si lava con H^2O, alcool ed etere.

Determinazione quantitativa delle nucleine. — Non abbiamo metodi esatti per determinare quantitativamente le nucleine contenute in un organo o tessuto, essendo difficilissimo separarle completamente dai fosfati e dalle altre sostanze fosforate, quali la lecitina, il protagono, la jecorina, ecc.

Tuttavia, contentandosi di resultati approssimativi, si può operare nel seguente modo:

L'organo, liberato dal sangue, spezzettato e finemente tritato, è estratto ripetutamente con alcool ed etere; quindi è sottoposto alla digestione cloridro-peptica; il residuo insolubile è trattato, come sopra; poi trattato con acidi, alcool ed etere, e finalmente disseccato e calcinato con $NaOH$ e $NaNO^3$, allo scopo di determinare quantitativamente il P, che serve ad indicare il contenuto in nucleina.

Nucleine artificiali. — T. H. MILROY s'è assunto il cómpito di preparare varie « nucleine artificiali » (facendo agire l'acido nucleinico estratto dal timo sopra varie sostanze proteiche) e di compararle con le nucleine naturali. La **sintoninnucleina** è una combinazione di acido nucleinico e sintonina: è una combinazione abbastanza forte, comparabile a quella del pancreas, contenente circa il 4 % di P. La combinazione dell'acido nucleinico con un deuteralbumoso è anche molto stabile ed è più ricca di P (5,42 %).

Dalle ricerche di MILROY resulta che non solamente queste nucleine artificiali si comportano essenzialmente come le nucleine naturali, ma che anche le combinazioni dell'acido timinico con le proteine somigliano molto alle pseudonucleine, pur non essendo identiche perchè l'acido che si distacca da queste e che precipita anche le proteine differisce affatto dall'acido timinico.

Tutto ciò, e l'azione dei succhi digestivi sopra le nucleine artificiali e naturali, resultano con evidenza dalla seguente tabella, in cui si vedono le quantità di P trovate nelle sostanze genuine e nel residuo insolubile dopo che le dette sostanze erano state sottoposte all'azione della pepsina, della tripsina e di una soluzione 0,25 % di Na^2CO^3. Si scorge anche la nessuna azione della pepsina, e il fatto che l'azione dissolvente della tripsina è in massima parte dovuta al Na^2CO^3.

Tabella ventinovesima.

Sostanze analizzate	P prima della digestione	P dopo l'azione della pepsina (nel residuo indisciolto)	P dopo l'azione della tripsina (nel residuo indisciolto)	P dopo l'azione del Na^2CO^3 0.25 % (nel residuo indisc.)
Sintoninnucleina . .	3,490 %	3,859 % (dig. 10 ore)	1,469 % (dig. 6 ore)	1.998 % dig. 12 ore)
Id .	3,494 »	3,679 » (» 15 »)	0,993 » (» 10 »)	0,653 » (» 17 »)
Deuteroalbumosonucleina	6,327 »	6,29 »	—	—
Proteosonucleina (Proteosi di WITTE)	3,535 »	5,426 »	—	—
Sostanza nucleare delle emazie di anatra.	5,914 »	5,809 »	—	—
Nucleina del timo .	4,416 »	4,325 »	1,838 » (» 4 »)	2,503 » (» 4 »)
Nucleoglicoproteide del pancreas . . .	2,796 »	3,196 »	1,12 »	—

§ 44. **L'acido nucleinico.** — L'**acido nucleinico** è il più importante prodotto di scissione delle nucleine vere.

Esso si trova anche allo stato libero negli organi, e come tale fu trovato da MIESCHER negli spermatozoi del salmone (1874). Forse ciò che gl'istologi chiamano **cromatina** è in parte combinazione di acido nucleinico con una quantità maggiore o minore di proteine e in parte anche acido nucleinico libero.

Bisogna ammettere l'esistenza di diversi acidi nucleinici, a seconda delle diverse basi xantiniche che essi forniscono, o della proporzione diversa in cui esse vi sono contenute.

L'acido nucleinico studiato da KOSSEL nel lievito di birra differisce da quello di MIESCHER: in entrambi però il rapporto del P all'N è come 1 : 3. Così, tutti forniscono basi xantiniche; ma quello dello sperma contiene più xantina, quello del timo più adenina, ecc. Secondo KOSSEL, vi sarebbero almeno quattro acidi nucleinici: un acido adenil-nucleinico, che poi ha chiamato timo-nucleinico, un altro guanil-nucleinico, ecc., e tutti gli acidi nucleinici, ad eccezione del primo, sarebbero miscugli di questi acidi nucleinici elementari, con prevalenza di uno sui rimanenti. Quelli provenienti dai gliconucleoproteidi sarebbero degli acidi gliconucleinici, con molte sottovarietà. Il solo acido adenil-nucleinico, trattato con H^2SO^4, dà acido levulinico (KOSSEL e NEUMANN).

Gli acidi nucleinici, scomponendosi, non dànno più sostanze proteiche, ma acido fosforico e basi allossuriche. Tale scomposizione avviene anche bollendoli con acqua. Nella putrefazione essi dànno ipoxantina e xantina, accanto all'acido fosforico, poichè, in simili condizioni, l'adenina si trasforma in ipoxantina e la guanina in xantina.

Non contengono S, ma solo N e P. Quest'ultimo vi si trova in gran quantità (9 % nell'acido nucleinico dello sperma del salmone, avente la formola $C^{29}H^{49}N^9P^3O^{22}$).

Gli acidi nucleinici sono sostanze amorfe, bianche, fortemente acide, insolubili in acqua, alcool, etere, solubili negli alcali diluiti e in NH^3, precipitabili da queste soluzioni con acido acetico in eccesso (no, secondo ALTMANN), o con un piccolo eccesso di HCl, specialmente in presenza di alcool. Un grande eccesso di acidi minerali li ridiscioglie, e a lungo andare li denatura. Precipitano le proteine e i proteosi in soluzioni acide, formando dei corpi ritenuti come nucleine, che sono solubili in acqua alcalina e ammoniacale, donde vengono di nuovo precipitati da acido acetico o cloridrico, e resistono alla digestione cloridro-peptica più degli stessi acidi nucleinici, i quali del resto sono facilmente scomposti anche dagli alcali (ALTMANN).

Non ostante i tentativi e le ricerche di LIEBERMANN e di ALTMANN,

non si sa ancora in che stato si trovi il P negli acidi nucleinici, e a che cosa è dovuta la proprietà di questi di precipitare le proteine, formando con esse delle sostanze simili alle nucleine vere.

LIEBERMANN ha espresso l'opinione che gli acidi nucleinici siano combinazioni dell'acido metafosforico con le proteine; le basi xantiniche sarebbero semplicemente mescolate ad essi, derivando dai succhi dei tessuti. MALFATTI accetta anche quest'ipotesi. Ma entrambi si basano sugli acidi nucleinici ottenuti per sintesi. Ora, secondo KOSSEL gli « acidi nucleinici artificiali » hanno tanto poco di comune con quelli naturali, quanto le « nucleine artificiali » con le naturali. Gli acidi nucleinici artificiali non dànno basi allossuriche, come i naturali, e questi non contengono S, non dànno la reazione di MILLON e del biureto, come gli artificiali (MONTI).

KOSSEL, però, studiando i prodotti di scissione dell'acido nucleinico del lievito di birra trattato con alcali alla temperatura ordinaria, ha trovato che tale scissione segue in modo che la parte organica del corpo si stacca più e più dal resto fosforato, e che così nascono corpi straordinariamente ricchi in P. Uno di questi chiamò **acido plasminico,** che differisce dall'acido nucleinico, perchè si scioglie facilmente in acqua e in acqua acidulata con HCl: esso precipita le proteine come l'acido nucleinico, e la sua analisi mostrò che corrisponde alla formola $C^{15} H^{28} N^{6} P^{6} O^{30}$, vale a dire contiene il doppio di P dell'acido nucleinico. Scomposto con acidi diluiti bollenti, dà basi allossuriche, una sostanza organica azotata, ancora poco studiata, che mette in libertà il suo N in forma di NH^3 nell'ulteriore azione degli acidi, e finalmente $H^3 P O^4$.

Un altro prodotto di scomposizione (dell'acido timo-nucleinico) è l'**acido timinico**, il quale nasce quando le basi nucleiniche si distaccano dall'acido nucleinico: contemporaneamente non si formano altri prodotti di scissione e specialmente non comparisce $H^3 PO^4$. Le proprietà di quest'acido sono:

a) è facilmente solubile in acqua fredda, contrariamente all'acido nucleinico;

b) non è precipitato da queste soluzioni, mediante gli acidi minerali, come l'acido nucleinico;

c) l'uno e l'altro, in soluzione acetica, precipitano dalle loro soluzioni le proteine e i proteosi; il precipitato dato dall'acido nucleinico è quasi insolubile in HCl, mentre quello dato dall'acido timinico è facilmente sciolto dall'HCl e da soluzioni di molti sali.

Da altri studi KOSSEL potè trarre la convinzione che le basi nucleiniche si trovano nell'acido nucleinico in combinazione organica e non salina. Scaldando l'acido nucleinico in acqua, le dette basi infatti si distaccano; esso è dunque una combinazione appaiata, i cui sali sono discretamente stabili, ma che, in forma di acido libero, si scinde facilmente, come l'acido fenolsolforico di BAUMANN.

KOSSEL suppose che l'acido timinico potesse esser simile al gruppo prostetico contenuto nelle pseudonucleine. Ma MILROY ha isolato lo stesso acido che ALTMANN aveva ottenuto dal tuorlo d'uovo, e ha trovato che esso differisce profondamente dall'acido timinico per il rapporto esistente fra N e P.

Preparazione degli acidi nucleinici. — Per preparare gli acidi nucleinici si procede nel seguente modo (ALTMANN):

Si mescolano 200 cm.^{3} di lievito di birra fresco con 6000 cm.^{3} d'H^2O, più una soluzione di 200 gr. di Na OH in 500 cm.^{3} d'acqua, e si agita fortemente il miscuglio per 5 minuti alla temperatura dell'ambiente. Si satura poi la massima parte della Na OH con HCl, e quindi si aggiunge acido acetico in eccesso, e si lascia in riposo per 24 ore. Si decanta il liquido soprastante, lo si filtra, e si aggiunge tanto HCl finchè i precipitati che si formano si ridisciolgano ed il liquido rimanga solo un po' torbido. Poi si aggiunge ancora dell'HCl, finchè il liquido ne contenga 3-5 $^0/_{00}$, e un egual volume di alcool contenente una quantità eguale di HCl. Si lascia per uno o più giorni depositare, e poi si raccoglie il precipitato sopra un filtro, lo si lava con alcool acidulato, con alcool puro e con etere, e lo si dissecca all'aria calda.

Per purificare quest'acido nucleinico grezzo, lo si scioglie in acqua ammoniacale, si soprasatura la soluzione con acido acetico, si filtra, e si precipita di nuovo con HCl 3-5 $^0/_{00}$, aggiungendo un egual volume di alcool acidulato allo stesso titolo.

ALTMANN dà nel suo lavoro anche i metodi per ottenere l'acido nucleinico dal timo, dal tuorlo d'uovo, dallo sperma dei salmoni, ecc.

§ 45. **Il nucleone, l'acido carnico e la carniferrina.** — Col nome di **nucleone** SIEGFRIED ha distinto un corpo che si può ricavare dagli estratti muscolari, liberati dalle sostanze proteiche e dai fosfati, dal latte, ecc.

È una sostanza fosforata risultante dalla combinazione di acido fosforico e acido carnico — **acido fosfocarnico** — la quale contiene inoltre un corpo riducente il liquido di FEHLING. Poichè essa, nella sua scomposizione idrolitica, non dà una proteina, come le nucleine, ma un antipeptone (**acido carnico**), il SIEGFRIED credette di chiamarla nucleone.

Ne parliamo qui, benchè la sua composizione non giustifichi intieramente la sua posizione fra i proteidi.

L'acido carnico. — SIEGFRIED ha scoperto nell'estratto muscolare acquoso, liberato dalle sostanze proteiche e dai fosfati mediante l'acqua di barite, l'esistenza di un corpo — l' **acido carnico** che ha la formola $C^{10}H^{15}N^3O^5$ e un peso molecolare calcolato = 257, trovato = 262. Questo acido monobasico presenta le seguenti proprietà:

È molto solubile in acqua ed igroscopico, difficilmente solubile in

alcool freddo, meglio in alcool caldo, donde cristallizza in cristalli microscopici. Si scioglie in fenolo e in acido acetico glaciale; è insolubile in benzolo, cloroformio, etere.

Ha reazione acida, si combina con le basi, formando sali, scaccia l'CO^2 dai carbonati, si combina con HCl alla temperatura ordinaria, dando un composto ($C^{10} H^{15} N^3 O^5 HCl$) nel quale l'HCl non ha più le proprietà dell'acido libero, nè quelle dell'acido legato in forma salina; è scomposto dall'HCl a 130° C., dando come prodotti di scissione NH^3, lisina, lisatinina e due amidoacidi.

SIEGFRIED ha dimostrato che l'acido carnico è identico all'antipeptone di KUEHNE: ciò è stato confermato da ricerche posteriori e più minute di BALKE.

L'acido carnico è precipitato dall'acido nucleinico, dall'acido fosfovolframico (non completamente), dal tannino, dall'acido tricloroacetico e Na Cl, non dal sublimato, dall'acetato di piombo, dal ferrocianuro potassico e acido acetico, ecc.

Dà la reazione del biureto (colore rosso intenso), non quella di MILLON. Negli estratti muscolari l'acido carnico si trova appaiato con acido fosforico, in forma di **acido fosfocarnico**; questo, trattato con cloruro di ferro, dà un composto ferruginoso e fosforato costante. detto da SIEGFRIED **carniferrina**, che contiene 22,21 — 22,97 % di C. 2,61 — 3,35 % di H, 5,45 — 6,03 % di N, 28,36 — 29,46 % di Fe. 1,84 — 2,59 % di P, oltre l'O.

La carniferrina. — La carniferrina è solubile in alcali e carbonati alcalini, contiene il Fe fortemente combinato, almeno quanto lo è nell'ematogene di BUMGE e nella ferratina di SCHMIEDEBERG e MARFORI, è innocua e facilmente assimilabile. Essa è, come abbiamo detto, una combinazione ferrica dell'acido fosfocarnico, il quale a sua volta è un costituente normale dei muscoli, ed ha una grande importanza, perchè, potendo tener legato l'acido fosforico in soluzione neutra, debolmente acida o alcalina, rende possibile il trasporto simultaneo del P, del Fe, del Ca e del Mg a traverso i succhi organici.

SIEGFRIED ha potuto dimostrare che l'acido fosfocarnico non è un semplice etere fosforico dell'acido carnico, ma una molecola più complessa, la quale, scissa con $Ba (OH)^2$, dà, oltre all'acido carnico, altri gruppi più ricchi di C e meno ricchi, o privi affatto, di N.

Ecco infatti i prodotti di scissione dell'acido fosfocarnico normalmente esistente nei muscoli:

1.° L'acido carnico, di cui abbiamo già parlato.

2.° L'acido carbonico, che si separa per un processo puramente idrolitico, quando la sostanza è scaldata con acidi minerali diluiti. già sotto 100° C. Ciò ha un'importanza fisiologica non piccola. come vedremo subito. KRUEGER ha trovato che per 1 gr. di N dell'acido fosfocarnico si può liberare gr. 0,4091 di CO^2; così che nella sostanza

esisterebbe per 1 atomo di P 1 molecola di CO^2 separabile, ossia 1 molecola di acido fosfocarnico potrebbe liberare 1 molecola di $CO.^2$

3.° Un corpo riducente il liquido di FEHLING, che si forma scaldando l'acido fosfocarnico, o la stessa carniferrina, con acidi minerali, e meglio con HNO^3 4 %. La natura di questo idrato di carbonio non fu ancora stabilita. Esso dà furfurol e un osazone, che non potè essere ottenuto allo stato di purezza, e che certamente non era un glicosazone. Secondo KRUEGER, potrebbe essere affine all'acido glicuronico, poichè anche questo, scindendosi, dà furfurol e CO^2.

4.° Dalla carniferrina si possono ottenere inoltre acido succinico e acido paralattico.

BALKE, ossidando l'acido carnico con permanganato potassico, ha ottenuto un **acido ossicarnico** in forma di una polvere bianca nivea igroscopica, solubile in acqua, difficilmente in alcool, insolubile in etere, la quale arrossa la carta di tornasole, forma sali con le basi, scaccia l'CO^2 dai carbonati, ed è un acido bibasico. L'acido ossicarnico ha la formola

$$C^{30} H^{41} N^9 O^{15},$$

e un peso molecolare = 767; è dunque un corpo più complesso dell'acido carnico, e per ciò, contrariamente a questo, è precipitato dal $(NH^4)^2 SO^4$. Dà anche precipitati con l'acido picrico, fosfovolframico, e col tannino; non è precipitato dall'acetato di piombo, da acido acetico e ferrocianuro potassico. Dà la reazione del biureto, non quella di MILLON.

Abbiamo detto che l'acido fosfocarnico è una sostanza affine alle nucleine, dalle quali si distingue in primo luogo, perchè nella scissione idrolitica dà direttamente antipeptone o acido carnico, mentre le nucleine dànno una proteina; onde SIEGFRIED propose di chiamarlo **nucleone**.

Altre ricerche di SIEGFRIED hanno ora stabilito che nel lavoro muscolare viene consumato dell'acido fosfocarnico. Con questo fatto si accordano molti altri fatti messi in luce dai fisiologi, riguardanti il metabolismo del muscolo che lavora, e cioè:

a) Lo sviluppo dell'CO^2 per idrolisi, senza consumo di O (HERMANN); l'acido fosfocarnico dà infatti, come abbiamo visto, CO^2 come prodotto di scissione idrolitica. Notisi che KRUEGER ha trovato che l'acido fosfocarnico è solo in parte preformato nel muscolo. Si potrebbe per ciò pensare che un gruppo aldeidico $C\begin{smallmatrix}H\\O\end{smallmatrix}$ ossidandosi si trasformasse in gruppo carbossilico COOH, generando l'acido fosfocarnico: la sostanza contenente il gruppo CHO sarebbe la sostanza riducente trovata da SIEGFRIED; essa successivamente ossidandosi, con l'O che dal muscolo è assunto in maggior proporzione che non venga eliminato, si trasformerebbe in acido fosfocarnico, che, scin-

dendosi, metterebbe in libertà CO^2, mentre il residuo si rigenererebbe continuamente.

b) La formazione di acido fosforico che WEYL e ZEITLER fecero derivare dalle nucleine (poichè la lecitina è appena consumata nel lavoro muscolare), mentre ora si può farlo derivare dall'acido fosfocarnico di SIEGFRIED.

c) La formazione di acido lattico, che abbiamo visto derivare anche dal nucleone.

d) La presenza di un gruppo carboidrato nel nucleone potrebbe anche soddisfare all'ipotesi ammessa da alcuni che il muscolo lavorando consumi idrati di carbonio.

Tuttavia SIEGFRIED non ammette che il nucleone sia assolutamente l'unico materiale con cui il muscolo lavora, pur accennando ch'esso possa in parte costituire la sorgente dell'energia muscolare.

SIEGFRIED aveva già dimostrato nel latte la presenza costante dell'acido fosfocarnico (nucleone), che si può ottenere trattando il latte dealbuminizzato con cloruro di ferro, in una forma analoga alla carniferrina. Ma mentre la carniferrina dei muscoli dà come prodotti di scissione acido succinico e acido paralattico, quella del latte dà, oltre ad acido succinico, acido lattico di fermentazione, e un **acido orilico,** molto affine all'acido carnico, che ha la seguente formola:

$$C^{18} H^{28} N^4 O^8.$$

BALKE e IDE hanno determinato la quantità di carniferrina e quindi di acido carnico in diversi organi, ottenendo i seguenti resultati:

	Organi	Peso della sostanza usata in gr.	Carniferrina in gr.	Carniferrina in %	N della carniferrina in %	Acido carnico in %
di cavallo	*a*) Cuore . .	1000	4,2158	0,422	4,50	0,116
	b) Cuore . .	1000	4,5557	0,456	3,77	0,105
	c) Fegato . .	1000	0,4566	0,045	5,45	0,015
	d) Fegato . .	1000	0,4304	0,043	5,50	0,015
	e) Reni . . .	1000	1,4047	0,140	5,06	0,043
di cane	*f*) Reni. . .	73	0,5642	0,773	4.32	0.205
	g) Cuore . .	133	0,9282	0.690	5,92	0.253
	h) Fegato . .	439	2,1574	0,500	6,03	0.183
	i) Estratto di carne di KEMMERICH	250	27	10,80	5,25	3.50

M. MUELLER ha trovato nei muscoli di un uomo adulto 0,1-0,2 % di nucleone, e che il contenuto in nucleone dei muscoli di neonati è inferiore a quello dei muscoli di uomini adulti.

WITTMAACK ha trovato:

nel latte di	mucca	in media	0,0566 %	di	nucleone
»	donna	»	0,124 »	»	
»	capra	»	0,110 »	»	,

vale a dire, nel latte di donna e di capra, circa il doppio di nucleone che nel latte di mucca.

Determinazione quantitativa del nucleone. — Metodo di BALKE e IDE. — La sostanza, in cui si vuol determinare l'acido fosfocarnico, è tritata perfettamente; se ne pesa poi 1 chilo e la si digerisce prima con 2 litri, poi nuovamente con 1 litro d'acqua sul bagno d'acqua, a 50°-60°, agitando continuamente per 1 ora; si spreme quindi il tutto a traverso un pannolino. I filtrati riuniti son fatti bollire per 10-15 minuti, per coagulare le sostanze proteiche; si lascia raffreddare, si filtra. Dal filtrato si precipitano i fosfati mediante una soluzione di $Ca\,Cl^2$ e NH^3. Il nuovo filtrato, neutralizzato, viene riscaldato sino all'ebollizione; mentre bollisce, vi si fa cadere da una buretta una soluzione 1 % di cloruro di ferro.

Saggiando continuamente qualche goccia del liquido totale con rodanato potassico, si evita di aggiungere un eccesso del sale ferrico; quando si nota la reazione del Fe nel liquido, si lascia ancora bollire questo per 2 minuti, e si cessa di aggiungere (a gocce) il cloruro di ferro, quando la reazione del ferro persiste anche dopo la bollitura. Se si è aggiunto un eccesso di cloruro ferrico, si attenua la reazione acida del liquido con alcune gocce di NH^3. Si versa ora il liquido insieme col precipitato di carniferrina che si è formato in vasi più grandi, dove il precipitato si deposita, e, per decantazione, si lava ripetutamente finchè non dà più la reazione dell'HCl.

Il precipitato è poi centrifugato, trattato con alcool ed etere e disseccato a 105° C. Quindi vi si fa una determinazione di N col metodo di KJELDAHL, e dall'N totale si calcola l'acido carnico, moltiplicando quello per il fattore 6.1237.

§ 46. **Le basi allossuriche.** — Le **basi allossuriche,** che abbiamo più volte nominato nelle pagine precedenti, sono principalmente: la **xantina,** l'**ipoxantina,** la **guanina** e l'**adenina,** cui però si debbono anche aggiungere, come meno importanti, l'**eteroxantina,** la **paraxantina,** l'**episarcina,** la **carnina,** e finalmente anche la teobromina, la teofillina (dimetilxantine) e la caffeina (trimetilxantina), esistenti nelle piante.

Sono sostanze contenenti C, H, N e per la massima parte anche O, le quali hanno tutte un'intima parentela fra loro e con l'acido urico, che, come vedremo, è un loro derivato. La loro composizione è:

Xantina	$C^5 H^4 N^4 O^2$
Eteroxantina	$C^6 H^6 N^4 O^2$ (metilxantina)
Paraxantina	$C^7 H^8 N^4 O^2$ (dimetilxantina)
Guanina	$C^5 H^5 N^5 O$
Ipoxantina	$C^5 H^4 N^4 O$
Adenina	$C^5 H^5 N^5$
Episarcina	$C^4 H^6 N^3 O$ (?)
Carnina	$C^7 H^8 N^4 O^3$
Acido urico	$C^5 H^4 N^4 O^3$.

Benchè, per seguire l'ordine prestabilitoci, avessimo dovuto parlare di alcune di queste sostanze nel paragrafo dei **prodotti catabolici delle sostanze proteiche,** pure, data l'intima loro relazione coi proteidi, non sapremmo indugiare tanto a trattarne.

Infatti KOSSEL considerò alcuni di questi corpi come prodotti di scissione delle nucleine, nelle quali si trovano incorporati entro le cellule che nell'ulteriore differenziazione dei tessuti hanno più conservato i primitivi caratteri cellulari, mentre negli elementi istologici molto differenziati (fibre muscolari, per esempio) essi si trovano allo stato libero, mancando una sufficiente quantità di sostanze nucleari, in cui possano incorporarsi.

Dalle nucleine, veramente, finora sono state ottenute solo la xantina, l'ipoxantina, la guanina, l'adenina, e un'altra base, ottenuta recentemente da KOSSEL e NEUMANN dall'acido timonucleinico, detta **citosina.** La loro derivazione dalla nucleina è illustrata dal seguente diagramma:

Nucleina

Proteina — Acido nucleinico

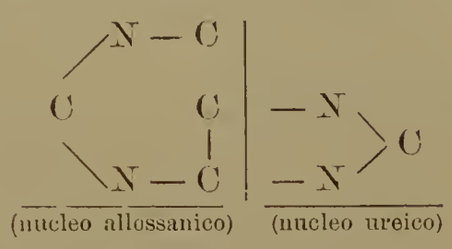
Acido fosforico — Adenina, Guanina, Xantina, Ipoxantina, Citosina } Basi nucleiniche.

Questo modo di scissione della nucleina si verifica non solamente *in vitro,* ma anche nell'organismo, e d'altra parte non è stato possibile ottenere le basi nucleiniche da nessun'altra sostanza proteica.

Le basi allossuriche possono essere disposte in due gruppi, per i rapporti che presentano fra loro, e cioè d'un gruppo fanno parte la xantina, l'eteroxantina, la teobromina, la teofillina, la caffeina e la guanina, e queste KOSSEL propriamente chiamò **basi xantiniche;** nell'altro gruppo vanno noverate: l'adenina, la metiladenina, l'ipoxantina e la dimetilipoxantina, e queste chiamò **basi sarciniche.** Per ciò, mentre si può anche adoperare l'espressione: **basi nucleiniche,** per quelle che si ottengono dalla scomposizione dell'acido nucleinico,

è inesatto denominare **basi xantiniche,** tutti i corpi enumerati sopra col quale nome propriamente s'indicherebbero solo le basi del primo gruppo.

Tutti questi corpi, compreso l'acido urico, hanno però questo di comune: contengono nella loro molecola un nucleo allossanico e un nucleo ureico, i quali sono legati insieme in modo ben determinato, come mostra il seguente schema:



Da ciò resulta che il nome più appropriato per questi corpi sarebbe quello proposto da KOSSEL e KRUEGER di **basi allossuriche,** che noi abbiamo anche adottato.

Di queste, alcune si trovano regolarmente nell'orina: xantina, guanina, ipoxantina, carnina, paraxantina, eteroxantina, e un'altra base avente la formola $C^4 H^6 N^3 O$ (BALKE e SALOMON), che non può essere noverata fra le basi allossuriche.

Noi qui ci limiteremo però a parlare di quelle basi allossuriche che abbiamo distinto col nome di basi nucleiniche. Ora troviamo che due di queste basi appartengono al gruppo delle basi xantiniche e due al gruppo delle basi sarciniche. Fra le due sostanze di ciascun gruppo esistono dei rapporti intimi.

Per l'azione dell'HNO^2, infatti, la guanina si trasforma in xantina, e l'adenina in ipoxantina:

$$\underbrace{C^5 H^4 N^4 O . NH}_{\text{(guanina)}} + HNO^2 = \underbrace{C^5 H^4 N^4 O^2}_{\text{(xantina)}} + N^2 + H^2 O;$$

$$\underbrace{C^5 H^4 N^4 . NH}_{\text{(adenina)}} + HNO^2 = \underbrace{C^5 H^4 N^4 O}_{\text{(ipoxantina)}} + N^2 + H^2 O.$$

In queste reazioni un gruppo imidico (NH) è sostituito da un O, onde la guanina e l'adenina sono da considerarsi rispettivamente come un'imidoxantina e un'imidoipoxantina.

Ancha nella putrefazione la guanina e l'adenina si trasformano in xantina e ipoxantina.

Tutte, decomposte con HCl, dànno NH^3, glicocolla, CO^2 e acido formico, mentre l'acido urico, trattato allo stesso modo, dà solamente NH^3, CO^2 e glicocolla.

§ 47. **Proprietà generali delle basi nucleiniche.** — Le basi nucleiniche sono sostanze ben cristallizzabili, che formano con gli acidi minerali sali anche ben cristallizzabili, i quali, ad eccezione dei sali di adenina, sono scomposti dall'acqua.

Sono facilmente solubili in alcali; son precipitate dall'acido fosfovolfranico in soluzione acida, e dall'NH^3 e soluzione ammoniacale di $AgNO^3$ in forma di combinazioni argentiche. Questi precipitati sono solubili in HNO^3 della densità 1,1 bollente. DRECHSEL e BALKE hanno trovato che tutte queste basi (ad eccezione della caffeina e della teobromina) sono precipitate dal liquido di FEHLING in presenza di un mezzo riducente, per es. dell'idrossilamina. Anche il $CuSO^4$ con bisolfito sodico precipita le basi xantiniche (KRUEGER e WULFF).

Preparazione delle basi nucleiniche. — Su queste proprietà delle basi nucleiniche sono fondati i metodi di separazione di queste sostanze.

Metodo di KOSSEL. — Gli organi o tessuti finemente divisi vengono cotti per 3-4 ore in H^2SO^4 5-10 %. Nei filtrati si precipitano con acetato basico di piombo i fosfati e le sostanze proteiche: l'eccesso del sale viene allontanato mediante l' H^2S; il filtrato è concentrato e quindi trattato con NH^3 e soluzione ammoniacale di $AgNO^3$. Le basi precipitano in forma di sali doppi del $AgNO^3$: i precipitati e i filtri, separatamente, dopo l'aggiunta di un po' d'urea (allo scopo di evitare una trasformazione dell'adenina in ipoxantina, data l'eventuale presenza di acido nitroso), sono sciolti in poco HNO^3 bollente avente il peso specifico 1,1. Raffreddando fortemente, dopo aver filtrato il liquido a caldo, cristallizzano i sali doppi d'ipoxantina, di guanina, adenina e $AgNO^3$, mentre nel liquido rimane sciolto il sale doppio di xantina e $AgNO^3$.

Si filtra: le combinazioni argentiche delle tre basi sono lavate con acqua sul filtro, finchè il filtrato per l'aggiunta di HCl non presenti più intorbidamento.

Il precipitato delle tre basi nucleiniche combinate con $AgNO^3$ è ora sospeso in acqua, portato all'ebollizione e quindi scomposto mediante l'aggiunta di NH^4S a gocce (un eccesso di NH^4S è da evitare); si aspetta che si depositi il AgS, sempre a caldo, e quindi si filtra anche a caldo; nel filtrato si trova l'ipoxantina, l'adenina e una parte della guanina, isolate e in soluzione.

La guanina poi si separa, trattando lo stesso filtrato, già concentrato sopra un bagno d'acqua, con un eccesso di NH^3, mentre l'ipoxantina e l'adenina rimangono in soluzione. Il resto della guanina è rimasto nel precipitato di AgS, donde si può ricuperare, bollendo il detto precipitato in HCl diluito, filtrando dopo il raffreddamento, e soprassaturando il liquido filtrato con NH^3, per cui la guanina liberata dal sale argentico precipita completamente. Le due porzioni di guanina sono unite, lavate con soluzione di NH^3, disseccate e pesate.

Nel liquido liberato dalla guanina rimangono ora in soluzione, come abbiamo detto, l'ipoxantina e l'adenina. Raffreddandolo forte-

mente, magari dopo avere evaporato l'NH^3, si separa l'adenina, mentre l'ipoxantina rimane ancora sciolta, e si può poi ottenerla evaporando definitivamente il liquido.

Abbiamo detto che nel primo filtrato ottenuto dal liquido per la prima volta raffreddato era rimasto sciolto il sale doppio di xantina e $AgNO^3$. Per separare ora la xantina, si aggiunge al detto filtrato un eccesso di NH^3, a fine di saturare l'acido nitrico e provocare così la precipitazione del sale argentico della xantina; quindi si allontana da questo l'Ag con H^2S, si filtra; si tratta il liquido filtrato con molta NH^3 e di nuovo si filtra; dal filtrato evaporato si ottiene la xantina pura.

§ 48. **Determinazione quantitativa delle basi nucleiniche.** — 1. **Metodo di** Kossel **modificato da** Bruhns. — Il principio si fonda sopra il metodo di separazione delle basi nucleiniche dianzi descritto.

La xantina viene pesata, cristallizzata e secca, dopo che dalle sue combinazioni argentiche è stato allontanato l'Ag con H^2S.

La guanina è pesata come tale, dopo averne riunito le due porzioni.

Si tratta ora di separare l'ipoxantina dall'adenina. Queste vengono sciolte in acido nitrico, e il liquido vien filtrato. Nel filtrato contenente l'ipoxantina e l'adenina, che non può esser mescolato con l'estratto cloridrico del AgS, si aggiungono poche gocce d'una soluzione acquosa di metilarancio, e poi quasi lo si neutralizza con carbonato sodico diluito; quindi vi si aggiunge della soluzione concentrata fredda di picrato sodico, finchè il liquido totale abbia assunto un colore intensamente giallo. Precipita il picrato di adenina; il precipitato è raccolto sopra un filtro, lavato con acqua finchè il filtro abbia completamente perduto il suo color giallo, disseccato a 100° C e pesato.

Il filtrato contenente l'ipoxantina è bollito e trattato a caldo con $AgNO^3$; precipita il picrato d'Ag e d'ipoxantina; indi si raffredda e si saggia se la precipitazione è stata completa; si filtra, e si lava il precipitato, che poi vien disseccato a 100° C e pesato. Il liquido dal quale si fanno queste precipitazioni non deve contenere HCl.

Dalla formula del picrato d'adenina:

$$C^5H^5N^5 . C^6H^2(NO^2)^3OH$$

si può facilmente calcolare la quantità dell'adenina. Alla quantità trovata di adenina bisogna poi aggiungere gr. 0,0024 di adenina per ogni 100 cm.^{3} di filtrato.

Così pure dalla formula del picrato d'argento e d'ipoxantina:

$$C^5H^3AgN^4O . C^6H^2(NO^2)^3OH$$

si calcola la corrispondente quantità d'ipoxantina; dalla quantità trovata bisogna poi sottrarre gr. 0,001.

Per determinare la guanina, che è in parte solubile in NH^3 a caldo, è meglio però precipitarla dalla sua soluzione sufficientemente diluita con un eccesso di acido metafosforico, e determinare col metodo di KJELDAHL-ARGUTINSKI l'N totale del precipitato ben lavato. Conoscendo il contenuto percentuale in N della guanina, si può facilmente calcolare dall'N trovato la quantità in peso della base.

Dal filtrato si precipitano poi nuovamente l'ipoxantina e l'adenina con soluzione ammoniacale di $AgNO^3$; si scompongono con HCl molto diluito le combinazioni argentiche di queste due basi, si filtra e si lava il residuo sul filtro con acqua leggermente acidulata con HCl, e si procede poi alla separazione delle due basi secondo il metodo di BRUHNS. In questo caso, le difficoltà di detta separazione sono dovute alla presenza dell'acido cloridrico. Si tratta il liquido, come sopra, con picrato sodico. Il filtrato ottenuto dopo la precipitazione del picrato d'adenina vien soprasaturato con NH^3 e precipitato completamente con soluzione argentica; il precipitato è lavato con acqua calda e cotto più volte con acido nitrico del peso specifico 1,1. Ciascuna volta, l'acido è rapidamente separato dal residuo mediante filtrazione; i vari filtrati acidi sono riuniti insieme e, dopo l'aggiunta di circa gr. 0,25 di nitrato d'argento, lasciati in riposo per 24 ore. Il precipitato costituito dal sale d'ipoxantina, che si forma, vien poi disseccato a 100° C. Si verifica però una perdita d'ipoxantina; ma si può correggere l'errore corrispondente aggiungendo alla quantità trovata gr. 0,0031 d'ipoxantina.

2. **Metodo di** KRUEGER **e** WULFF. — Secondo un altro metodo di KRUEGER e WULFF, si separano le basi nucleiniche (nell'orina), aggiungendo al liquido caldo del $CuSO^4$ e del bisolfito sodico. Le basi precipitano, insieme con l'acido urico, completamente secondo gli Autori, in forma di combinazioni con l'ossidulo di rame, donde possono essere ottenute, decomponendole con H^2S.

Ma ecco come precisamente si procede: 100 cm.^{3} di orina o d'altro liquido, privati assolutamente con un metodo semplice d'ogni traccia di sostanze proteiche, sono scaldati sino all'ebollizione. Al liquido bollente si aggiungono 10 cm.^{3} d'una soluzione di bisolfito sodico contenente 50 gr. di sale in 100 cm.^{3} di H^2O, e subito dopo 10 cm.^{3} d'una soluzione di $CuSO^4$ al 13 %, e si riscalda di nuovo sino all'ebollizione. Il liquido prima bianco diventa ora bruno. Infine, si aggiungono ancora 5 cm.^{3} d'una soluzione 10 % di $BaCl^2$. Il precipitato di $BaSO^4$ agevola il depositarsi del precipitato di ossidulo di rame, facilitando così la filtrazione. Dopo 2 ore si filtra attraverso carta svedese di J. MUNKTELL, e si lava cinque volte con acqua bollita e raffreddata a 60° C.

Si distrugge il filtro ancora umido trattandolo insieme col precipi-

tato in un matraccio di vetro di potassio della capacità di 150 cm.^{3} col miscuglio di GUNNING (acido solforico concentrato 15 cm.^{3}, solfato potassico gr. 10, solfato di rame gr. 0,5), e quindi si determina l'N totale contenuto nel liquido secondo il metodo usuale di KJELDAHL-ARGUTINSKI, adoperando per liquido titolatore una soluzione $\frac{N}{10}$ di acido ossalico, e per indicatore l'acido rosolico.

Dall'azoto totale si sottrae l'N dell'acido urico contenuto nel precipitato, determinando l'N dell'acido urico in un'altra porzione del liquido primitivo, secondo il metodo di SALKOWSKI-LUDWIG. Per differenza si ha l'N delle basi allossuriche.

3. **Metodo di** CRAMERER. — Per determinare le basi xantiniche nell'orina abbiamo anche un altro metodo, quello di CRAMERER, generalmente poco conosciuto.

Anche CRAMERER precipita insieme l'acido urico e le basi, e determina la loro quantità dall'N dei precipitati: ma per la precipitazione si serve del $AgNO^3$ invece che dell'ossidulo di rame, come fanno KRUEGER e WULFF. Perchè ai precipitati argentici non si mescolino i triplofosfati, egli tratta l'orina prima con mistura magnesica, e poi il filtrato col $AgNO^3$.

Gli errori inerenti a tutti questi metodi derivano da che:

a) i reagenti di KRUEGER e WULFF precipitano anche le proteine, i proteosi, e l'acido solfocianidrico, onde il loro metodo dà valori troppo alti;

b) la soluzione argentica ammoniacale non precipita completamente le basi xantiniche, e non le precipita tutte (per es., poca ipoxantina non è precipitata, DRECHSEL e SALOMON) in presenza di proteosi, onde il metodo di KOSSEL dà valori troppo bassi;

c) con i triplofosfati precipita anche dell'acido urico, onde anche il metodo di CRAMERER dà valori troppo bassi.

Per ovviare a questi inconvenienti HUPPERT ha fatto una serie di determinazioni comparative dell'N di orine trattate col metodo di KOSSEL o col metodo di KRUEGER e WULFF, precipitando l'acido urico e le basi allossuriche secondo il processo originale di HAYCRAFT e allontanando i triplofosfati prima di eseguire le determinazioni di N. Egli rimetteva il precipitato ottenuto con la mistura magnesica di nuovo nel vaso in cui era stato prodotto, vi aggiungeva dell'acqua e 10 cm.^{3} di una soluzione 40 % di bisolfito sodico e lo portava all'ebollizione, per cui si ridiscioglieva quasi tutto; così l'acido urico era sottratto all'azione ossidante dell'ossido d'argento. Quindi precipitava l'acido urico e le basi allossuriche coi reattivi di KRUEGER e WULFF, senza aggiungere il $BaCl^2$. Dopo 2 ore raccoglieva il precipitato sopra un filtro di carta di MUNKELL e lo lavava finchè era allontanata ogni traccia di NH^3. Tutte le

analisi ebbero come resultato che il processo genuino di KRUEGER e WULFF dava 25-30 % di N in più.

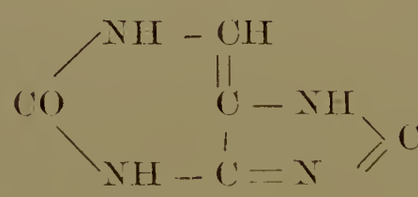
Altra modificazione del metodo di KOSSEL. — BURIAN e SCHUR, che fecero determinazioni delle basi allossuriche nel latte, trovarono che non è prudente precipitare i proteosi, che si formano durante la cottura della poltiglia dell'organo con H^2SO^4, con acetato di piombo, prima di trattare il liquido con $AgNO^3$, perchè il precipitato di proteosi trascina seco una certa quantità di basi. Essi apportarono una correzione al metodo di KOSSEL: precipitarono prima nel filtrato le basi con NH^3 e sale argentico, e determinarono l'N del precipitato ben lavato; poi precipitarono dal filtrato, acidificato con acido acetico e liberato dall'Ag con H^2S e dall'H^2S in eccesso, i proteosi con acetato basico di piombo; finalmente scacciarono dal filtrato il Pb con H^2SO^4 e trattarono il nuovo filtrato, liberato dei proteosi, con NH^3 e $AgNO^3$.

Ottennero sempre un nuovo precipitato di basi allossuriche, il cui N aggiunsero a quello del primo precipitato. Ma il secondo precipitato non rappresenta un valore costante relativamente al primo, poichè, forse, la quantità di basi non precipitate in presenza dei proteosi dipende dalla quantità di questi.

In conclusione, nessuno dei metodi descritti è esatto; ma il più consigliabile è quello originale di KOSSEL, con la correzione di BURIAN e SCHUR.

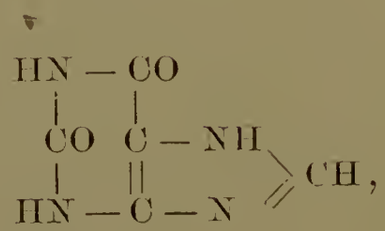
KRUEGER e WULFF intendevano applicare il metodo da loro descritto anche alla determinazione quantitativa dell'acido urico e del rapporto quantitativo fra acido urico e basi allossuriche (ved. sopra). Naturalmente vi si oppongono le stesse difficoltà dianzi segnalate per la determinazione di queste ultime.

§ 49. **Studio delle varie basi nucleiniche in particolare.** — La **xantina** ($C^5H^4N^4O^2$):



(FISCHER),

ovvero



secondo le ultime ricerche dello stesso FISCHER.

scoperta da MARCET (1823), trovasi in piccola quantità nell'orina e in molti organi (muscoli, fegato, milza, pancreas, reni, testicoli.

sperma, timo, cervello, ecc.), nei tessuti vegetali e in alcuni calcoli vescicali; in gran quantità negli estratti di carne.

È una polvere amorfa o costituita di masse granulose di foglietti cristallini, incolore, difficilmente solubile in acqua (1 : 14151-14600 a 16° C, 1 : 1300-1500 a 100° C, ALMÉN), solubile in NH^3 (più dell'acido urico), $NaOH$ e in acidi diluiti, insolubile in alcool ed etere. Dalle soluzioni ammoniacali si può ottenerla, per evaporazione, pura, o, mediante l'aggiunta di $AgNO^3$, in forma di una combinazione insolubile gelatinosa di xantina argentica ($C^5H^4N^4O^2 . AgNO^3$), solubile in HNO^3 caldo, donde cristallizza nel raffreddamento.

Si combina con l'acido nitrico dando caratteristiche forme cristalline: $C^5H^4N^4O^2 . HNO^3$.

Anche con $NaOH$ forma una combinazione ben cristallizzabile, che si scioglie in un eccesso di alcali.

Ossidata (con $KClO^3$ e acqua di Cl) dà allossana e urea.

Il cloridrato di xantina ($C^5H^4N^4O^2 . HCl$) forma cumuli di cristalli microscopici (molto meno solubili in acqua delle corrispondenti combinazioni d'ipoxantina e guanina), che l'acqua scompone. La xantina in soluzione ammoniacale è precipitata dal $ZnCl^2$, dal $CaCl^2$ e dall'acetato di piombo in soluzione acquosa, la base si separa per l'aggiunta di $HgCl^2$ o di acetato di rame, che la precipita però, solo se si porta il liquido all'ebollizione, in forma di una polvere giallo-verdastra.

Reazioni della xantina. — 1. **Prova di** LIEBIG e WOEHLER, o di STRECKER. — Se si evapora in una capsula di porcellana un po' di xantina con poco HNO^3 sino a secchezza, si ottiene un residuo giallo, che diventa rosso-giallastro a contatto della $NaOH$ e della KOH (non dell'NH^3) e, riscaldando, rosso-porpora o blu-violetto. Questa reazione distingue la xantina dall'acido urico.

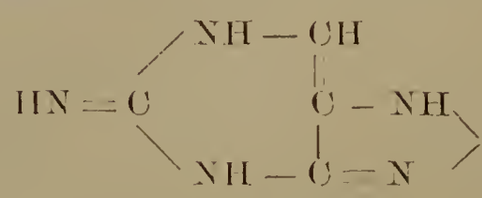
2. **Prova di** HOPPE-SEYLER. — Se si mette in un vetrino d'orologio un miscuglio di soluzione di $CaCl^2$ e di $NaOH$ e si aggiunge un granellino di xantina pura, si forma intorno ad esso dapprima un alone verde intenso, che tosto diventa bruno, e finalmente sparisce.

3. **Prova di** WEIDEL. — Se si scioglie un po' di xantina in acqua di cloro calda preparata di fresco, si aggiunge una traccia di HNO^3, si evapora il liquido fino a secchezza sul bagno-maria e si espone il residuo sotto una campana di vetro ai vapori ammoniacali, si osserva un bel color rosso intenso o porpora-violetto. La carnina dà una simile colorazione (con pochissima acqua di cloro); non la dà l'adenina nè la guanina.

La xantina si forma, insieme con la metilxantina, digerendo con acido acetico una soluzione acquosa di acido cianidrico, e dalla guanina per l'azione dell'HNO^2. La xantina piombica trattata con jodometile dà la teobromina.

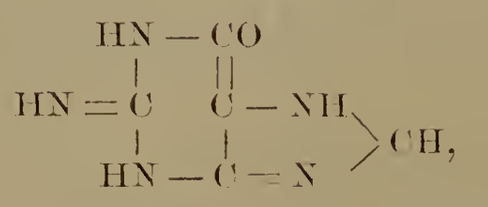
I derivati xantinici (metilxantina, isoxantina, idroxantina, pseudoxantina, paraxantina, eteroxantina) non possono essere trattati qui; onde ci limitiamo per ora ad accennarli.

§ 50. La **guanina** ($C^5 H^5 N^5 O$) o imidoxantina:



(FISCHER, WULFF),

ovvero



secondo le ultime ricerche di FISCHER,

trovasi nel guano, negli escrementi dei ragni, nei muscoli, pancreas, milza, fegato, polmoni, retina, nelle squamme e nella vescica natatoria di molti pesci (in combinazioni calciche), negli escrementi dei gasteropodi, degli scorpioni, dei cefalopodi, e inoltre nelle piante; si forma dal lievito di birra scomposto con acidi diluiti, e nella putrefazione di esso.

È una polvere bianca, ordinariamente amorfa, insolubile in acqua, in alcool ed etere; difficilmente solubile in NH^3 fredda, più facilmente in NH^3 concentrata calda, donde si può ottenerla in forma cristallina, per evaporazione. Il suo comportamento verso l'NH^3 la distingue dalla xantina, ipoxantina, ecc. Si scioglie facilmente in acidi diluiti, con cui forma dei sali; anche in alcali, e le sue combinazioni con gli alcali fissi (calcioguanina) sono un po' solubili in acqua calda, specialmente contenente alcali liberi. Il cloridrato di guanina ($C^5 H^5 N^5 O . HCl + H^2 O$) cristallizza facilmente, in aghi o prismi raggiati decomponibili dall'$H^2 O$, ed è stato utilizzato da KOSSEL nella ricerca microscopica della guanina, per il suo speciale comportamento alla luce polarizzata.

L'acido picrico e metafosforico la precipitano anche da soluzioni molto diluite. La sua combinazione col $Ag NO^3$ ($C^5 H^5 N^5 . Ag NO^3$) si scioglie assai difficilmente in HNO^3 caldo, donde precipita col raffreddamento in fini aghi cristallini. Con l'acido nitrico dà il composto $C^5 H^5 N^5 O . HNO^3 + 1\,^1/_2\, H^2 O$.

Reazioni della guanina. — **Reazioni di** CAPRANICA. — La soluzione di cloridrato di guanina, a differenza della xantina e ipoxantina, è precipitata da una soluzione concentrata di acido picrico, dal ferricianuro potassico, da una soluzione concentrata di bicromato potassico, dal $Hg Cl^2$. Il picrato di guanina forma sferule microscopiche gialle o cumuli di aghi gialli splendenti disposti a pennello; il precipitato prodotto dal ferricianuro potassico si presenta in forma di prismi

giallo-brunastri; e quello prodotto dal bicromato, in forma di prismi rosso-aranciati.

La xantina e l'ipoxantina trattate allo stesso modo non dànno gli ultimi due precipitati.

Una soluzione acquosa di calcioguanina preparata a caldo è completamente precipitata dall'acetato di rame, al calore di ebollizione.

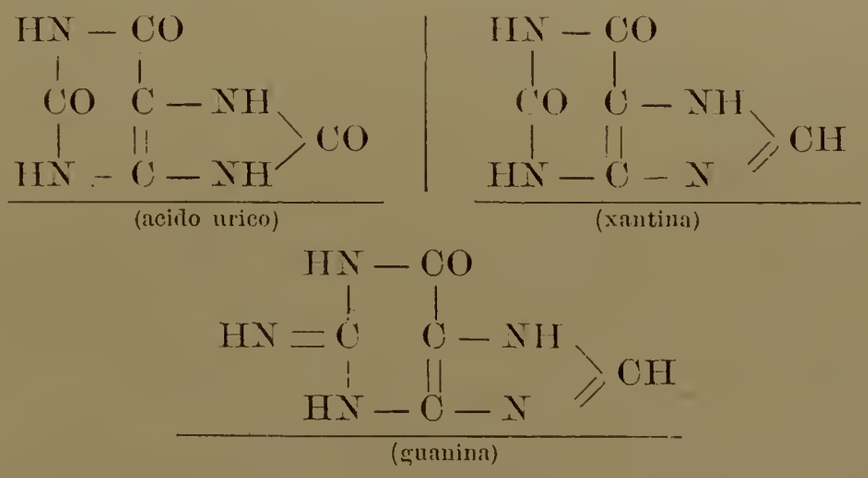
KOSSEL e WULFF hanno analizzato queste combinazioni della guanina.

La guanina dà la stessa reazione della muresside con l'HNO^3 più NaOH, come la xantina; ma non dà la reazione con l'acqua di Cl, nè quella di WEIDEL.

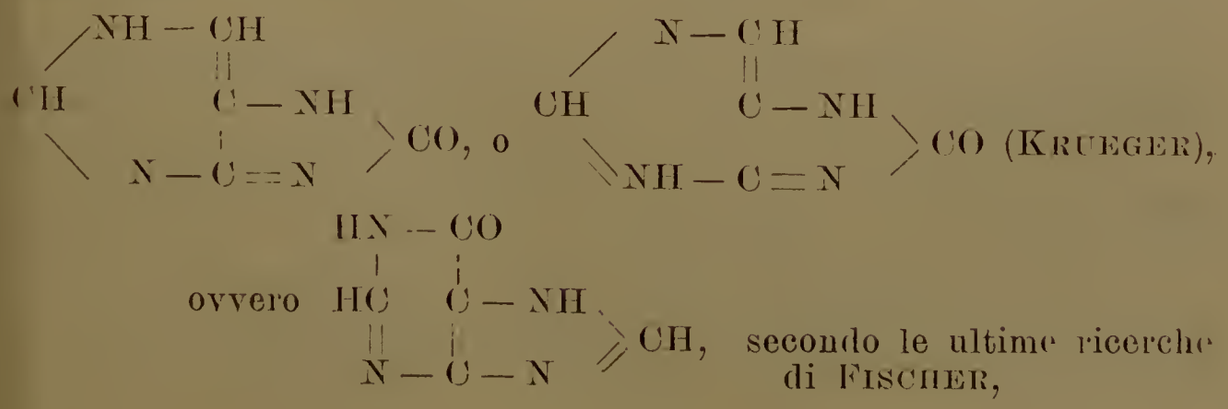
Per l'azione del $KClO^3$ e dell'HCl, la guanina dà guanidina e acido parabanico (ossalilurea):

$$\underbrace{C^5H^5N^5O}_{\text{(guanina)}} + 3O + H^2O = \underbrace{CH^5N^3}_{\text{(guanidina)}} + \underbrace{CO(CONH^2)^2}_{\text{(acido parabonico)}} + CO^2.$$

La guanina è una xantina in cui un O è sostituito da un NH, e può esser considerata come un acido urico in cui un resto ureico è sostituito da un resto guanidinico $C \begin{cases} = NH \\ NH- \end{cases}$, come resulta dal confronto delle formole di costituzione delle tre sostanze:



§ 51. **L'ipoxantina** (o **sarcina**) ($C^5H^4N^4O$), la cui formola di costituzione sarebbe



e che fu scoperta da SCHERER nella milza e da STRECKER nei muscoli, si trova sempre accanto alla xantina, e in maggior quantità nello sperma di salmone, e nel midollo delle ossa, in tracce nell'orina normale e nel latte.

È costituita da aghi cristallini microscopici incolori, solubili in 300 p. di acqua fredda, in 78 p. di acqua bollente, in 950 p. d'alcool, insolubili in etere, solubili in acidi e alcali diluiti e in NH^3. Il cloridrato di ipoxantina ($C^5 H^4 N^4 O . HCl$) è cristallino, ed è meno difficilmente solubile del cloridrato di xantina; il nitrato d'ipoxantina ha la formula $C^5 H^4 N^4 O . H N O^3$.

La combinazione argentica, che si può ottenere precipitando con $Ag NO^3$ una soluzione ammoniacale di ipoxantina, è difficilmente solubile in HNO^3 bollente, donde, col raffreddamento, si separa in forma di prismi curvi caratteristici, che costituiscono nel loro insieme un miscuglio di combinazioni argentiche di composizione non costante. Se però si tratta questo miscuglio a caldo con NH^3 e con un eccesso di $Ag NO^3$, si forma una combinazione d'ipoxantina e $Ag NO^3$, che, disseccata a 120° C., presenta questa composizione costante:

$$2 (C^5 H^2 Ag^2 N^4 O) H^2 O,$$

e può servire alla determinazione quantitativa della base.

Il picrato d'ipoxantina, che si presenta in forma di prismi gialletti, contrariamente a quello di adenina, è facilmente solubile; se però ad una soluzione bollente di esso si aggiunge una soluzione neutra o debolmente acida di $Ag NO^3$, l'ipoxantina è precipitata in questa combinazione doppia:

$$C^5 H^3 Ag N^4 O . C^6 H^2 (NO^2)_3 OH.$$

L'ipoxantina non è precipitata dall'acido metafosforico.

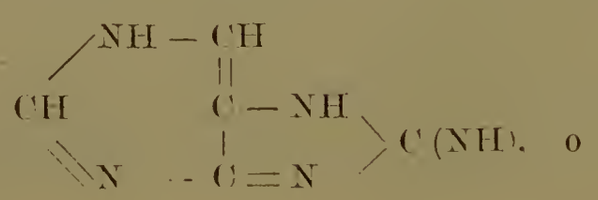
L'acetato di rame separa l'ipoxantina dalle sue soluzioni acquose in forma di ipoxantina + Cu O, a caldo; lo stesso fanno i sali di Hg.

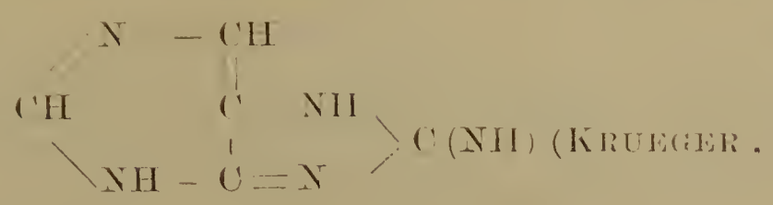
L'ipoxantina non dà la reazione della muresside, nè quella col $Ca Cl^2$ e $Na OH$, nè la reazione di WEIDEL.

Reazione di KOSSEL. — Ma, trattata con HCl e Zn, una soluzione d'ipoxantina dà, aggiungendo un eccesso di alcali, un colore prima rosso-rubino e poi rosso-brunastro: reazione che ha in comune con l'adenina.

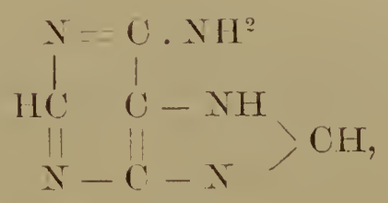
(Introdotta nell'organismo degli uccelli, viene eliminata in forma di acido urico).

§ 52. **L'adenina** ($C^5 H^5 N^5 + 3 H^2 O$), che ha la seguente costituzione:





ovvero



secondo le ultime ricerche di FISCHER, il quale ha così riportato le formole delle basi allossuriche alla forma più antica data loro da L. MEDICUS,

fu scoperta da KOSSEL (1885) nel pancreas, e si trova in tutte le cellule nucleate, nel timo, ecc., nel lievito di birra, ecc., e nei tessuti vegetali.

È un'imidoipoxantina, che cristallizza in cristalli trasparenti esagonali aventi l'aspetto di lunghi aghi o colonnette con 3 molecole d'H^2O di cristallizzazione, che all'aria o in seguito al riscaldamento perdono la loro trasparenza: difficilmente solubili in acqua fredda (in 1086 parti), facilmente in acqua calda; insolubili in etere e cloroformio, solubili in acido acetico glaciale, poco solubili in alcool caldo; facilmente solubili in acidi minerali, in alcali e in NH^3; decomponibili a 278° C., alla quale temperatura cominciano a sublimarsi, emettendo CNH. Se questi cristalli sono lentamente scaldati in una quantità d'acqua insufficiente a sciogliere, diventano rapidamente torbidi a 53° C.: questo fatto può servire come reazione caratteristica dell'adenina.

Col $Ag\,NO^3$ l'adenina dà una combinazione ($C^5H^5Ag\,N^5$ a caldo, $C^5H^5N^5 . Ag^2O$ a freddo), difficilmente solubile in $H\,NO^3$ a caldo, donde si separa, nel raffreddamento, un miscuglio di combinazioni argentiche di questa base. Con l'acido picrico dà una combinazione difficilmente solubile (in 3500 parti d'acqua fredda):

$$C^5H^5N^5 . C^6H^2(NO^2)_3OH.$$

Si combina anche col picrato di Hg; è precipitata dall'acido metafosforico da soluzioni non troppo diluite, ma il precipitato si ridisciogliè in un eccesso dell'acido.

Il cloridrato di adenina forma col cloruro d'oro una combinazione doppia, che si separa parte in forma di aggregati foglettati, parte in forma di cristalli prismatici, aventi spesso angoli smussi.

I sali di adenina sono precipitati dall'acqua di barite. Le sue soluzioni alcooliche formano col cloruro di zinco un precipitato solubile

in un eccesso d'NH^3, e col $HgCl^2$ una combinazione insolubile anche a caldo. Il $CaCl^2$ dà un precipitato che si ridiscioglie a caldo.

Di quei sali si conoscono: il solfato $[(C^5H^5N^5)^2H^2SO^4 + 2H^2O]$, solubile in acqua calda; il cloridrato cristallizzato che si scioglie in 42 p. d'acqua; il nitrato $(C^5H^5N^5 . HNO^3 + \frac{1}{2}H^2O)$, in aghi stellati solubili in 110 p. d'acqua; il cloroplatinato $(C^5H^5N^5 . HCl)^2PtCl^4$, giallo cristallino.

L'adenina non dà la reazione della muresside, nè quella di WEIDEL: bensì la reazione di KOSSEL con HCl e Zn in presenza di alcali.

§ 53. Affine alle basi nucleiniche è la **carnina** $(C^7H^8N^4O^3)$, scoperta da WEIDEL nell'estratto di carne ispessito, che ne contiene circa l'1 %. Essa è forse un acido dimetilurico: $C^5H^2(CH^3)_2N^4O^3$, ma la sua costituzione è ancora sconosciuta.

Questa sostanza ossidandosi, mediante l'acqua di bromo o l'HNO^3, si trasforma in ipoxantina, donde si deduce la sua parentela con le altre basi nucleiniche:

$$\underbrace{C^7H^8NO^3}_{\text{(carnina)}} + Br^2 = \underbrace{C^5H^4N^4O . HBr}_{\text{(bromidrato d'ipoxantina)}} + \underbrace{CH^3Br}_{\text{(bromuro di metile)}} + CO^2 .$$

L'ipoxantina che si forma può esser poi separata dall'H Br mediante la soda caustica.

È precipitata dall'acetato basico di Pb a freddo, con cui forma una combinazione che si ridiscioglie nell'acqua bollente. Se ora si satura la soluzione calda con H^2S, la carnina si libera, rimanendo disciolta nel liquido, il quale viene poi liberato dal PbS e concentrato, allo scopo di dimostrarvi la presenza della base.

Aggiungendo soluzione concentrata di $AgNO^3$ al liquido suddetto, precipita, insieme col AgCl, anche la combinazione di carnina e $AgNO^3$. Si elimina il primo con l'NH^3, e si scompone la seconda sospesa in poca acqua calda mediante il H^2S. La soluzione filtrata a caldo contiene ora carnina pura, che si può in seguito decolorare col carbone animale e riprecipitare con l'alcool. La carnina forma masse non perfettamente cristalline, insolubili in alcool, difficilmente solubili in acqua fredda, molto in acqua calda.

La soluzione acquosa neutra è precipitata dal $AgNO^3$; il precipitato è insolubile in HNO^3 e in NH^3. È precipitata anche dall'acetato basico di Pb, se non contiene acetato neutro di Pb; ma non dal sublimato, dall'acido picrico, dall'acetato di rame, che precipitano le altre basi nucleiniche.

Il cloridrato di carnina, che si ottiene in rosette di aghi splendenti, sciogliendo la carnina in HCl forte a caldo, non è decomposto dall'H^2O.

Il $PtCl^4$ precipita dalla soluzione di cloridrato di carnina, dopo lungo tempo, il corrispondente cloroplatinato in forma di polvere giallo-oro.

La carnina non dà reazioni colorate, ad eccezione di quella di WEIDEL.

§ 54. Per dimostrare la derivazione dell'acido urico dalle basi nucleiniche, dovremmo, a dir vero, trattare qui di questa sostanza; ma preferiamo parlarne a proposito dei prodotti catabolici delle sostanze proteiche.

Qui invece vogliamo ancora riferire le reazioni di alcune basi allossuriche e di certi altri corpi affini, verso i sali di cobalto, e preferiamo farlo in forma schematica (PICKERING).

Sostanze	$CoSO^4 + NH^3$	$CoSO^4 + KOH$
Biurete	Giuoco di colori dal violetto al blu e al rosso Bordeaux; precipitato grigio. Un eccesso di NH^3 dà una soluzione gialla e poi rosso-bruna, con un precipitato grigio.	Soluzione violetta che passa poi in blu, con precipitato blu fine; da ultimo soluzione purpurea. Il precipitato diventa grigio dopo un po' di tempo.
Allossana	Con traccie di NH^3, precipitato violetto e soluzione rosso-rosa. Il precipitato è solubile in NH^3, e dà una soluzione rosa, che poi si trasforma in rosso arancio brillante.	Soluzione rosso-rosa. Con poche gocce di KOH, si ha un precipitato violetto solubile in KOH con cui dà soluzione rosso-rosa. KOH in eccesso dà un color porpora cliotropio e in quantità maggiore una soluzione violetta.
Acido urico.	—	Precipitato violetto e soluzione incolora. Il precipitato è solubile in NH^3, dando un liquido bruno rossastro.
Xantina	Con tracce di NH^3, un precipitato violetto solubile in più NH^3, dando una soluzione giallo-grigiastra cangiante in rosso-bruno. Filtrando, la soluzione rimane incolore. Il precipitato esposto all'aria diventa grigio-piombo.	Con tracce di KOH, si ottiene un precipitato violetto solubile in poco eccesso di KOH dando una soluziane violetta. Aggiungendo NH^3, si ha una soluzione blu cangiante e un precipitato blu che poi diventa grigio.

§ 55. **Caratteri comuni ai corpi allossurici.** — I corpi allossurici presentano i seguenti caratteri comuni (GAUTIER):

a) Sono degli alcaloidi deboli, che dànno dei cloridrati e dei cloroplatinati cristallizzabili, non dissociabili, o assai lentamente, dall'acqua.

b) Fusi con gli alcali, perdono la maggior parte del loro N allo stato di cianogeno. Essi contengono tutti, infatti, il gruppo CNH: anzi l'adenina ($C^5H^5N^5$) è un polimero dell'acido cianidrico, e la xantina è stata ottenuta idratando direttamente questo nitrile CNH.

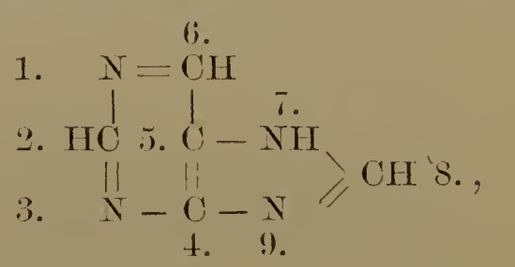
c) Scaldati con alcali e acqua, non dànno generalmente urea, idratandosi; non sono dunque semplicemente degli ureidi, per quanto

siano a questi affini. La guanina, per esempio, può dare acido parabanico per ossidazione e idratazione simultanee, e si può passare dalla guanina alla xantina e alla sarcina per una serie di reazioni regolari.

d) Tutti presentano una grande stabilità; come nella famiglia urica, questi corpi possono passare direttamente gli uni negli altri senza dislocare il loro edificio carbonico fondamentale. Questo carattere basterebbe a dimostrare la loro parentela e i loro rapporti di costituzione.

e) Tutti questi corpi sono insieme basici e debolmente acidi; si uniscono con l'ossido di rame, e, bolliti con acetato di rame, dànno delle combinazioni insolubili.

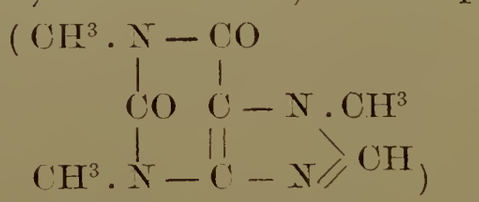
f) Le basi nucleiniche insieme con l'acido urico potrebbero farsi derivare dalla ipotetica combinazione



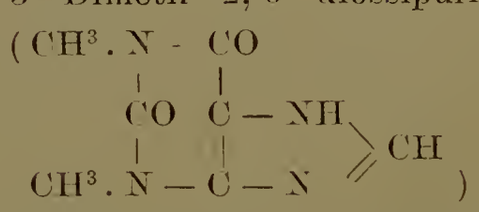
che FISCHER ha chiamato **purina**.

Dalla **purina** deriverebbero, per sostituzione degli atomi dell'H, tutti i corpi allossurici, nel seguente modo:

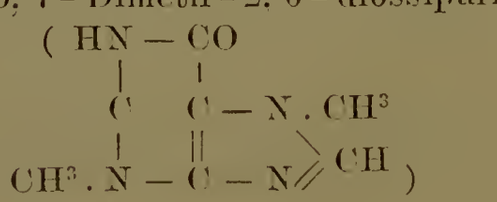
Adenina = 6 - Amidopurina
Ipoxantina = 6 - Ossipurina
Xantina = 2, 6 - Diossipurina
Guanina = 2 - Amido - 6 - ossipurina
Caffeina = 1, 3, 7 - Trimetil - 2, 6 - diossipurina:



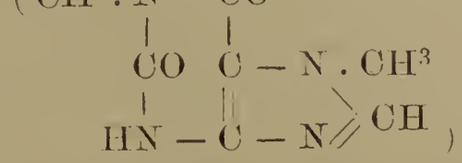
Teofillina = 1, 3 - Dimetil - 2, 6 - diossipurina:



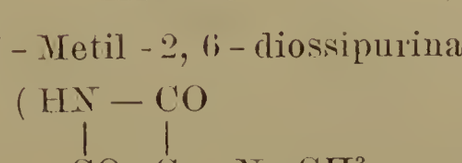
Teobromina = 3, 7 - Dimetil - 2, 6 - diossipurina:



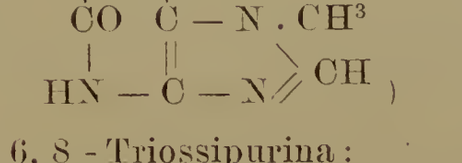
Paraxantina = 1, 7 - Dimetil - 2, 6 - diossipurina:



Eteroxantina = 7 - Metil - 2, 6 - diossipurina:



Acido urico = 2, 6, 8 - Triossipurina:



§ 56. **I glicoproteidi.** — Abbiamo detto che per **glicoproteidi** intendiamo dei proteidi composti da una proteina e da una sostanza riducente gl'idrati di ossidi metallici. S'intende facilmente che, potendo variare la natura del nucleo proteico, quella del nucleo carboidrato e il rapporto quantitativo di entrambi, si possono avere vari glicoproteidi, differenti fra loro per caratteri accessori.

Le mucine e i mucoidi. — Dopo che s'ebbe stabilito come carattere fondamentale d'un glicoproteide il fatto che, bollito con acidi minerali diluiti, desse solamente come prodotto di scissione, oltre al corpo proteico, una sostanza riducente, molte sostanze, della più differente natura, che prima erano considerate come affini, unicamente per i loro caratteri fisici esteriori, furono separate e classificate in gruppi distinti. Rimasero come rappresentanti tipici di questo gruppo le **mucine**, mentre si dissero **mucoidi** o **mucinoidi** tutti quei corpi che, pur avendo l'aspetto esteriore delle mucine, se ne discostavano sia perchè non contenessero un corpo riducente, sia perchè contenessero questo insieme con gruppi atomici di differente natura; e si distinsero col nome di **mucinogeni** quei corpi sconosciuti nella loro intima costituzione, i quali rappresentano, per così dire, nell'interno delle cellule mucipare, i generatori delle mucine.

Erano le nucleoalbumine che andavano confuse più specialmente con le mucine vere, la così detta mucina della bile, che è invece un nucleoproteide, la pseudomucina dei liquidi delle cisti ovariche, i mucoidi delle cartilagini (condromucoidi), della cornea, del corpo vitreo, forse anche lo jalogene, il jalomucoide, ecc. (ved. PARTE SECONDA).

Un po' di luce dunque ora è stata fatta; ma non bisogna dimenticare che la questione riguardante la parentela di tutti questi corpi è ancora tutt'altro che risoluta, e che le mucine, e specialmente i corpi affini, costituiscono un gruppo di sostanze degne di ulteriori studi.

Ciò che a noi più interessa di rilevare, in generale, è l'alta importanza che potrebbero avere i glicoproteidi nel metabolismo degli zuccheri. Poichè ora sappiamo che questi glicoproteidi sono così diffusi nell'organismo, potremmo anche credere che essi avessero la proprietà di scindersi mettendo in libertà il nucleo carboidrato, che sarebbe altrimenti utilizzato, e che anche i glicoproteidi rappresentassero una forma d'immagazzinamento degli idrati di carbonio nell'organismo.

Certo non sappiamo ancora nulla sul metabolismo delle mucine, e vediamo anzi che queste sostanze costituiscono come dei prodotti di rifiuto (muco).

§ 57. Le **mucine vere** sono sostanze colloidi esistenti solo negli organismi animali, le quali in alcali diluiti (acqua di calce, di barite, $Na^2 CO^3$ 1 %) dànno soluzioni mucose filanti, donde l'acido acetico le precipita, senza ridiscioglierle quando è aggiunto in eccesso. Si trovano nelle grosse glandole mucose, nel tessuto connettivo, nel cordone ombelicale, ecc., nella sostanza cementante degli epiteli, in molti secreti e nell'interno di cellule epiteliali (muco).

Trattate con acidi minerali diluiti, a caldo, si decompongono in acidoproteina, derivante dalla proteina (della categoria delle globuline) del glicoproteide, da una parte, e sostanze, non ancora ben conosciute (idrati di carbonio o acidi affini, per es. acido glicoronico), riducenti l'idrato d'ossido di rame, dall'altra. Anche il vapor d'acqua ad alta tensione opera la stessa decomposizione, liberando un idrato di carbonio da prima indecomposto (gomma animale) e che poi si trasforma in un zucchero (gommosio) sotto l'azione di acidi minerali diluiti bollenti. I due gruppi, proteico e carboidrato, sono uniti in una specie di combinazione eterea, simile a quella dei glicosidi.

Questa reazione distingue le mucine vere da altre sostanze che vanno sotto lo stesso nome e si presentano in uno stato fisico e con un aspetto simili, onde furono introdotte nel gruppo poco definito dei **mucoidi**.

Per l'azione di acidi forti, dalle mucine si ottiene, tra l'altro, anche leucina, tirosina, acido levulinico, ecc.

Gli alcali molto diluiti, come l'acqua di calce, alterano alcune mucine più, altre meno. Una soluzione 5 % di KOH forma alcaliproteina con la proteina della mucina (della glandola sottomascellare), e inoltre sostanze simili ai proteosi ed ai peptoni, e anche una o più sostanze acide riducenti. Ma tanto il mucinogene, quanto la mucina tipica e quella alterata dal contatto degli alcali differiscono solo per il loro contenuto in acqua d'idratazione (Loebisch).

Le mucine hanno caratteri differenti, a seconda della loro origine, e sembra che tale differenza sia dovuta in parte alla natura della proteina, in parte a quella della sostanza riducente, che entrano a far parte di esse. Variabile è anche, del resto, il rapporto fra la quantità d'idrato di carbonio e quella di proteina che si trovano insieme combinate.

Proprietà generali della mucina. — La mucina ha reazione acida; allo stato secco, si presenta in forma di una polvere bianca o giallo-grigia; è insolubile in acqua, etere, ecc.; solubile in alcali diluiti, con cui forma delle soluzioni neutre non coagulabili dal calore d'ebollizione. L'acido acetico e gli acidi minerali la precipitano da soluzioni prive di sali, in presenza dei quali la precipitazione è incompleta o non avviene. È poco solubile in HCl 2 %, ben solubile in HCl 5 %, in cui, però, si altera.

La mucina è precipitata da soluzioni sature di $NaCl$, $MgSO^4$ $(NH^4)^2SO^4$. Se ad una soluzione di mucina si aggiunge $NaCl$ nella proporzione del 5-10 % del liquido totale, e cautamente poco acido acetico diluito, la mucina non precipita; diluendo il liquido con H^2O, o dializzando il sale, mantenendo lo stesso grado di acidità, essa precipita. Da soluzioni contenenti sali neutri la precipitano l'acido tannico, l'alcool e molti sali metallici; non la precipitano l'HNO^3, il ferrocianuro potassico con acido acetico.

La mucina precipitata dagli acidi è quasi insolubile in $NaCl$ 5-10 %. Rimasta a lungo (6-8 settimane) in alcool, diventa insolubile in alcali deboli, e sembra come trasformata in una proteina coagulata.

La mucina presenta tutte le reazioni colorate delle sostanze proteiche.

L'analisi elementare di mucine estratte da vari organi, e da diversi Autori, ha dato i seguenti risultati:

	C	H	N	S	O	
Mucina della chiocciola	50,32	6,84	13,65	1,75	27,44	(HAMMARSTEN)
» dei tendini. .	48,30	6,44	11,75	0.81	32,70	(LOEBISCH)
» della glandola sottomascellare	48,84	6,80	12,32	0,84	31,20	(HAMMARSTEN)

Le mucine contengono, dunque, meno N, C e S, e più O delle sostanze proteiche genuine.

Dalle sue analisi, LOEBISCH trasse la seguente formola empirica per la mucina dei tendini:

$$C^{160}H^{256}N^{32}SO^{80}.$$

Lo S è contenuto in alcune mucine in parte labilmente, in parte stabilmente combinato.

Preparazione della mucina. — 1. Per estrarla dalle glandole sottomascellari, si fa un estratto acquoso dell'organo spezzettato, e si filtra; si aggiunge al filtrato H Cl diluito (2,5 %), fino a che il liquido totale ne contenga non più di 1,5 %. Il precipitato che immediatamente si forma là dove cade l'acido, si ridiscioglie, agitando; ma aggiungendo 2-3 volumi d' H^2O, la mucina si separa. La si purifica poi, ridiscioglendola con H Cl e riprecipitandola con acqua.

Allo stesso modo si ottiene la mucina del cordone ombilicale.

2. La mucina dei tendini si ottiene (LOEBISCH) estraendo prima con soluzione diluita di Na Cl le sostanze proteiche solubili, poi trattando il tessuto finemente diviso con acqua di calce, in cui passa la mucina, e dalla quale questa viene poi precipitata mediante acido acetico. Il precipitato è poi lavato con acqua, purificato mediante la ripetizione dello stesso trattamento, e lavandolo infine con alcool ed etere.

Non conosciamo precisamente la quantità di mucina, che si trova nei vari tessuti ed organi; è, però, certo, che questa sostanza è molto diffusa nell'organismo.

Ciò non ostante, ecco alcuni dati in proposito:

	Mucina %
Cute (dei bambini)	0,766
» (di adulti)	0,385
Tessuto connettivo	0,521
Glandola parotide	tracce
Tendini del cuore	tracce.

L'alto contenuto in mucina del connettivo dei bambini dipende dal suo maggior contenuto in sostanza fondamentale di sostegno.

§ 58. **La condrina, l'acido condroitinsolforico e la condroitina.** — Fra i glicoproteidi dobbiamo mettere quella speciale colla che si ottiene bollendo in acqua la sostanza fondamentale delle cartilagini (jaline), e che fu detta **condrina.** Ma non è colla vera, simile a quella che si ottiene dalla cottura del collagene del tessuto connettivo propriamente detto: la colla di cartilagine rappresenta un miscuglio di glutine e di combinazioni, specialmente alcaline, solubili in acqua, dell'acido condroitinsolforico. La colla di cartilagine dà per ciò reazioni diverse dal vero glutine.

L'**acido condroitinsolforico,** così chiamato da SCHMIEDEBERG perchè risulta da una combinazione di H^2SO^4 con la condroitina, liberato dalla sua combinazione con il glutine, è solubile in acqua, contiene N e S, ed era prima descritto col nome di **acido condrotico.** La **condroitina** è una sostanza amorfa, colloide, solubile in acqua: contiene N, ed è un derivato di idrati di carbonio, onde appartiene alla categoria delle sostanze jaline. Scissa mediante la cottura

in acidi minerali diluiti, dà acido acetico e un idrato di carbonio azotato più semplice, che riduce, contrariamente alla condroitina, la soluzione cuprica alcalina, e si scinde, quando è fatta bollire con $Ba(OH)^2$ in acido glicoronico e glicosamina:

$$\underset{\text{condroitina}}{C^{18}H^{27}NO^{14}} + 3H^2O = \underset{\text{condrosina}}{\underline{C^{12}H^{21}NO^{11}}} + 3CH^3 . COOH;$$

$$C^{12}H^{21}NO^{11} + H^2O = \underset{\text{acido glicoronico}}{\underline{COOH . (CHOH)^4 . COH}} + \underset{\text{glicosamina}}{\underline{C^6H^{11}O^5 . NO^2}}.$$

È per la sostanza riducente che si libera dalla condroitina, che noi dobbiamo noverare la « condrina » fra i glicoproteidi.

Se ad una soluzione di colla di cartilagine (**condrina**) si aggiungono acidi diluiti, questi si combinano con gli alcali, e l'acido condroitinsolforico libero insolubile precipita, sciogliendosi poi in un eccesso, per es., di H Cl. Nella medesima soluzione di condrina il solfato di rame, l'acetato di piombo, ecc. producono dei precipitati, perchè formano sali insolubili con l'acido condroitinsolforico; ma il condroitinsolfato di rame si ridiscioglie in un eccesso di solfato di rame.

Se con HCl diluito si libera la cartilagine macerata dai suoi sali, e poi la si digerisce per settimane con KOH molto diluita, si riesce a separare completamente dalla cartilagine l'acido condroitinsolforico. Ciò che rimane, quando si lava per allontanare la KOH, è puro collagene, che, bollito con acqua, dà còlla pura ordinaria. Per contro, mescolando questa con condroitinsolfato potassico o sodico, il liquido che si ottiene si comporta intieramente come una soluzione di **condrina** (colla di cartilagine).

La sostanza che MOERNER preparò dalle cartilagini e denominò **condromucoide** sarebbe, secondo SCHMIEDEBERG, un miscuglio di combinazioni insolubili dell'acido condroitinsolforico con sostanze proteiche e collagene.

L'acido condroitinico trovasi in tutte le formazioni cartilaginee normali e patologiche, negli strati interni delle grosse arterie (MOERNER) e nella sostanza amiloide del fegato degenerato (ODDI).

§ 59. I **fosfoglicoproteidi** dànno, come le nucleoalbumine, nella digestione cloridropeptica. una pseudonucleina. Si distinguono però dalle nucleoalbumine, perchè, bolliti con un acido minerale diluito, dànno anche una sostanza riducente, e dai nucleoproteidi, secondo HAMMARSTEN, perchè non dànno corpi xantinici, come prodotti di scissione. Di tali sostanze molto complesse noi conosciamo finora:

1. L'**ictulina** (WALTER), che fu considerata come una vitellina, e che ha la seguente composizione centesimale: C 53,52; H 7,71; N 15,64; S 0,41; P 0,43; Fe 0,1. Per i caratteri di solubilità. somiglia ad una globulina. Dalla pseudonucleina dell'ictulina WALTER

preparò una sostanza riducente, che dava con la fenilidrazina una combinazione ben cristallizzabile.

2. L'**elicoproteide** (HAMMARSTEN) ha la seguente composizione centesimale: C 46,99; H 6,78; N 6,08; S 0,62; P 0,47. Per l'azione degli alcali, si ottiene da questa sostanza un idrato di carbonio simile alla gomma, levogiro, detto **sinistrina animale**. Bollita con un acido, dà invece una sostanza riducente destrogira.

3. **Jalogeni** chiamò KRUKENBERG alcune sostanze caratterizzate dal fatto che sotto l'azione degli alcali, staccandosi S e un po' di N, si trasformano in **jalini**, che sono prodotti solubili contenenti N, i quali, nell'ulteriore scomposizione, dànno idrati di carbonio puri riducenti il $Cu\,SO^4$ in soluzione alcalina. Alcuni di questi jalogeni sembrano essere veri glicoproteidi: la **neossina**, la **membranina** (della membrana di DESCEMET), la **spirografina**, ecc.

Altri invece non sembrano essere proteidi: la **jalina** delle cisti d'echinococco, l'**onufina**, ecc.

Fra i jalogeni potrebbero noverarsi anche: la cosidetta **mucina delle oloturie**, la **condrosina** e la còlla di cartilagine, prima detta **condrina**, che abbiamo studiato sopra.

§ 60. I **nucleoglicoproteidi** possono essere considerati come combinazioni di un nucleo proteico con un gruppo laterale, detto da KOSSEL **gruppo prostetico**, che contiene il P e dà colla sua decomposizione, oltre alle basi nucleiniche, anche sostanze riducenti, le quali si combinano con la fenilidrazina, formando composti cristallizzabili.

Tali nucleoglicoproteidi trovansi specialmente nelle cellule di lievito di birra, nelle cellule glandolari del pancreas e della glandola mammaria, (nelle uova dei pesci?), ecc.

Quelli finora meglio conosciuti sono:

1.° il nucleoglicoproteide della glandola mammaria (HAMMARSTEN);

2.° il nucleoglicoproteide della glandola pancreatica (HAMMARSTEN);

3.° il nucleoglicoproteide delle cellule di lievito di birra (KOSSEL).

1. Il **nucleoglicoproteide** che, insieme con altre proteine, è contenuto nel parenchima della glandola mammaria, deve avere una grandissima importanza, poichè esso è forse quella sostanza che, sdoppiandosi, dà origine da una parte alla caseina (o meglio ai generatori di questi) e dall'altra al lattosio.

Per ottenerlo, si lava convenientemente la glandola finemente divisa, e la si estrae con soluzioni alcaline diluitissime, cui esso conferisce un aspetto viscoso e tenace: aggiungendo al filtrato dell'acido acetico diluito, il proteide precipita. Esso è poi raccolto, lavato e purificato coi metodi ordinari.

Bollito con acidi minerali diluiti, dà una sostanza proteica, dell'H^3PO^4 e una sostanza riducente; digerito in succo gastrico, una nucleina.

Il proteide che noi riesciamo così ad ottenere è però rappresentato nella glandola da un altro più complesso, che sarebbe come il generatore del primo. HAMMARSTEN ha distinto questi due proteidi col nome di proteide-α (il più complesso) e di proteide-β (l'altro); quest'ultimo è molto affine alle nucleine. Il proteide-α è molto difficile ad ottenersi, ed HAMMARSTEN non lo ha isolato, perchè sempre contiene pigmento sanguigno e un altro pigmento, che pare nasca dallo stesso proteide, per decomposizione all'aria.

Quando il proteide-β si stacca dal proteide-α, si separa anche una proteina coagulabile dal calore.

Se la glandola mammaria, tagliuzzata e portata in soluzione 0,7 % di Na Cl. è scaldata per un certo tempo alla temperatura del corpo, si forma lattosio, sembra, per un'azione disintegrante, esercitata dal protoplasma cellulare sul nucleoglicoproteide descritto. Ma prima comparisce, però, un idrato di carbonio colloide non identico al glicogeno. La sostanza riducente di questo proteide, dunque, deve trovarsi primitivamente in uno stato differente da quello in cui noi l'osserviamo dopo il trattamento del proteide con acidi minerali diluiti bollenti.

2. Se si bollisce il pancreas, ben pulito e finemente diviso, in acqua, si ottiene poi, dopo il raffreddamento, un filtrato chiaro giallo-pallido, in cui l'HCl o l'acido acetico diluiti producono un abbondante precipitato fioccoso, che si può purificare sciogliendolo in acqua debolmente alcalinizzata e riprecipitandolo con gli acidi. Il precipitato è fatto da un **nucleoglicoproteide** molto complesso, scoperto da HAMMARSTEN.

Questo proteide, bollito con H^2SO^4, dà basi nucleiniche, e specialmente guanina, e inoltre una sostanza riducente, che HAMMARSTEN ha dimostrato, dai caratteri dei suoi osazoni ed altri, essere un pentaglicosio. Digerito in succo gastrico artificiale, dà un residuo insolubile di nucleina, molto ricca di P. Le analisi della sostanza pura hanno dato la seguente sua composizione centesimale:

C 43.62; H 5.45; N 17,39; S 0,728; P 4,48.

Contiene inoltre molto Fe. Come il proteide 1, esso non è preformato nella glandola, ma nasce, durante la bollitura dell'organo in acqua, dalla scissione di un proteide-α molto più complesso. Contemporaneamente si distacca una proteina coagulabile. Il proteide-β più semplice, dianzi descritto, si trova nel filtrato in combinazione con alcali, che lo rendono solubile; la sottrazione dell'alcali ne determina la precipitazione.

Il proteide-z ha un'azione potentemente digestiva, tanto che HAMMARSTEN si domanda se esso non sia la stessa tripsina.

3. KOSSEL ottenne dalla scomposizione con gli acidi minerali diluiti bollenti dell'acido nucleinico del lievito di birra un idrato di carbonio, che dava con la fenilidrazina un miscuglio di due corpi cristallizzati distinti. Separati mediante la cristallizzazione frazionata, uno, avente un punto di fusione = 204°-205° C., si dimostrò all'analisi elementare corrispondere al fenilglicosazone, e non era fermentescibile; l'altro aveva un contenuto superiore in C e un punto di fusione più basso (circa 150° C.), e, alla prova di TOLLENS, si dimostrò essere un pentosio.

Come dicemmo sopra, KOSSEL ammette che il gruppo carboidrato, tanto nei glicoproteidi quanto nei nucleoglicoproteidi, è contenuto nel nucleo prostetico, vale a dire nel complesso fosforato della molecola, e non nel nucleo proteico.

Gli acidi nucleinici dello sperma di salmone o di carpa e l'acido leuconucleinico (KOSSEL) non contengono idrati di carbonio.

§ 61. **Le lecitalbumine.** — Col nome di **lecitalbumine,** LIEBERMANN ha designato delle combinazioni molto stabili di proteine e lecitina.

Già prima HOPPE-SEYLER aveva sostenuto che tali combinazioni esistono, e propriamente che l'ovovitellina è un corpo proteico contenente molta lecitina difficilmente separabile, e che anche l'emoglobina si trova nei globuli rossi fissata alla lecitina.

LIEBERMANN è riescito ad estrarre queste lecitalbumine dalla mucosa gastrica, dal parenchima renale, splenico, dal tessuto polmonare e dal fegato, nel seguente modo.

Preparazione delle lecitalbumine. — La mucosa gastrica finemente tagliata e abbondantemente lavata è messa a digerire per 2-3 giorni in HCl 2 ‰ con l'aggiunta d'un po' di pepsina. La poltiglia che rimane al fondo del vaso è raccolta, ripetutamente lavata, liberata dei cenci di mucosa in essa sospesi, lavata con alcool ed etere e quindi disseccata a bassa temperatura.

Caratteri generali della lecitalbumina. — È una sostanza bianca, grigiastra o bruna, granulosa, insolubile in acqua, in acidi diluiti, in alcool ed etere, indigeribile nel succo gastrico artificiale, molto facilmente tingibile con bleu di metilene, safranina, ematossilina, ecc. Ha reazione fortemente acida. In soluzioni di alcali caustici o di carbonati alcalini si rigonfia, formando un liquido appena filtrabile; bollita in soluzione di Na^2CO^3, si scioglie perfettamente, subendo una parziale scomposizione. Contiene molto P (6.12-6.93 % di P^2O^5), che però non si trova allo stato di acido metafosforico, come quello delle nucleine. Bollita per 3-4 ore in alcool, si scompone in una sostanza proteica non ancora ben definita, la quale non

contiene corpi allossurici, onde si distingue dalle nucleine, ma dà le reazioni del Fe, e in lecitina.

Queste lecitalbumine hanno la proprietà di fissare molto fortemente il Na^2CO^3, il quale quando trovasi in combinazione con esse ha perduto la proprietà di passare a traverso un filtro e di diffondere.

Questo fatto avrebbe, come vedremo, secondo LIEBERMANN, una grande importanza nella secrezione dell'HCl del succo gastrico. Per dimostrarlo, basta mescolare cautamente sopra un filtro della lecitalbumina con un liquido avente un'intensa reazione alcalina: il filtrato presenta sempre reazione intensamente acida, mentre il residuo sul filtro è alcalino. Ora si pensi che, secondo le analisi dello stesso autore, queste lecitalbumine si trovano in quantità considerevole anche nel parenchima renale, e si vedrà come semplicemente verrebbe così a spiegarsi la reazione acida dell'orina proveniente da un liquido alcalino com'è il sangue.

Ma anche se si digerisce della lecitalbumina con alcune soluzioni saline, o meglio se si filtrano queste a traverso uno strato di lecitalbumina, il sale viene scomposto e la base filtra in maggior quantità dell'acido. Per esempio, trattando convenientemente della lecitalbumina con cloruro di ferro, il filtrato può essere tanto esente di ferro da non dare la reazione nota col ferrocianuro potassico. Lo stesso potere di fissazione ha questo proteide per il sublimato. Le basi fissate non possono poi esser messe in libertà, che distruggendo la sostanza.

La lecitalbumina fissa anche avidamente gli alcaloidi, meno fortemente alcuni glicosidi (digitalina), le proteine (dell'albume d'uovo e del latte) in guisa tale che i filtrati non dànno più le reazioni caratteristiche di esse, e perfino il grasso; per contro sembra che non possa ritenere il glicosio e il peptone, o solo in piccolissima quantità.

§ 62. **I cromoproteidi.** — Col nome di **cromoproteidi** distinguiamo quei corpi proteici che risultano dalla combinazione di una o più molecole d'una proteina vera con un nucleo normalmente pigmentato o che può divenire pigmentato in determinate condizioni di ossidazione del corrispondente proteide. Le combinazioni di questi cromoproteidi con l'ossigeno, o con altri gas — combinazioni più o meno stabili — costituiscono altrettante modificazioni dei cromoproteidi originali, le quali, se variano poco nella loro costituzione chimica, possono variare notevolmente nelle loro proprietà ottiche e fisiologiche.

In generale, dobbiamo dire che la proprietà fisiologica che sopra tutte caratterizza i cromoproteidi è la capacità di contrarre più o meno labili combinazioni con i gas, ossigeno e acido carbonico. Per questa proprietà essi trasportano l'ossigeno dall'aria o dall'acqua, in cui sono immersi gli animali, ai tessuti profondi, e l'acido carbonico da questi

all'aria ed all'acqua. Essi presiedono dunque al fenomeno della respirazione, e possono ricevere a buon diritto il nome di **sostanze proteiche respiratorie.** La natura stessa della combinazione, che quei proteidi contraggono con i gas respiratori, rende facile la reciproca cessione e fissazione dei due gas, il reciproco scambio fra le sostanze respiratorie e il protoplasma delle cellule viventi, venendo in aiuto il processo fisico della diffusione dei gas nei liquidi dell'organismo secondo la legge dell'equilibrio delle tensioni parziali dei medesimi.

Noi avremmo dovuto trattare dei cromoproteidi nel capitolo del SANGUE, essendo le emoglobine, le emocianine, ecc., e sopratutto i loro prodotti di scomposizione, in generale, dei **pigmenti sanguigni.** Ma l'importanza che hanno i cromoproteidi nella funzione respiratoria, la natura loro, la loro composizione chimica, ci indussero a non distaccare lo studio di questi corpi da quello degli altri proteidi, con cui hanno molta affinità chimica.

Fra questi cromoproteidi noi studieremo: l'emoglobina, l'ossiemoglobina, la carbodiossiemoglobina, alcune combinazioni accessorie dell'emoglobina col CO, NO, H^2S, ecc., e finalmente alcuni cromoproteidi di animali inferiori, quali l'emocianina, l'emeritrina, ecc. L'emoglobina per sè stessa normalmente non esiste, o, come vedremo, solo in quantità piccolissima; essa si trova dappertutto combinata o con l'O (ossiemoglobina) o con l'CO^2 (carbodiossiemoglobina).

Vogliamo notare che i pigmenti del sangue che noi studiamo, secondo HOPPE-SEYLER, non sono che i prodotti di scomposizione di corpi molto più complessi nei quali le emoglobine si trovano combinate più o meno labilmente con altre sostanze (lecitina ?). Secondo questo Autore, contrariamente ai pigmenti liberi, le dette combinazioni naturali sono insolubili in acqua e non cristallizzabili, scompongono l'H^2O^2 senza rimanerne ossidate, e cedono più facilmente l'O nel vuoto. HOPPE-SEYLER propose di chiamare le combinazioni naturali dell'ossiemoglobina del sangue arterioso e della carbodiossiemoglobina del sangue venoso rispettivamente coi nomi di **arterina** e **flebina.**

§ 63. L'**emoglobina,** ossia l'ossiemoglobina privata di O, si trova in piccolissima quantità nei corpuscoli rossi accanto all'ossiemoglobina; in maggiore quantità nel sangue venoso e nel sangue asfittico: tuttavia ne parliamo in modo speciale, perchè essa rappresenta, per così dire, la sostanza genitrice di tutte le altre. Non sappiamo se alle varie ossiemoglobine (ved. in seguito) corrispondano altrettante emoglobine.

Preparazione dell'emoglobina. — Si ottiene facilmente una soluzione di emoglobina, sottoponendo all'azione del vuoto o d'una corrente prolungata di H una soluzione di ossiemoglobina, o abbandonando questa in tubi chiusi alla putrefazione. Si può anche ottenerla in cristalli che sono isomorfi a quelli

dell'ossiemoglobina, più oscuri e bluastri e fortemente pleocromatici (NENCKI e SIEBER), sottoponendo le soluzioni di ossiemoglobina o direttamente il sangue, ben chiusi e in piena putrefazione, agli stessi trattamenti (alcool, temperatura bassissima, ecc.) necessari a preparare i cristalli di ossiemoglobina, ma sempre fuori del contatto dell'aria.

Le emoglobine sono più solubili delle corrispondenti ossiemoglobine, tanto che allo stato di cristalli vanno facilmente in deliquescenza, e però cristallizzano meno prontamente; presentano, in soluzione, una sola stria d'assorbimento ($\lambda = 564$), detta ordinariamente stria di STOKES, larga, un po' diffusa, la quale occupa press'a poco lo spazio chiaro che rimane fra le due strie dell'ossiemoglobina, e propriamente trovasi fra D ed E, ma un po' anche sopra D.

Se in una soluzione, molto diluita, si trovano insieme ossiemoglobina ed emoglobina, le due strie d'assorbimento della prima si vedono quando lo strato liquido ha uno spessore minore di quello necessario perchè comparisca l'unica stria della seconda: questo fatto serve alla ricerca qualitativa simultanea delle due sostanze.

Lo studio dei rapporti d'assorbimento A_r e A'_r dell'emoglobina del cane per le regioni $D_{32}E - D_{54}E$ ($\lambda = 565 - 551$) e $D_{63}E - D_{84}E$ ($\lambda = 545 - 534$) dello spettro, con gli apparecchi di HUEFNER e di VIERORDT, ha dato i seguenti risultati:

A_r	A'_r	$\frac{A_r}{A'_r}$	Osservatori
0,001091	0,001351	0,807	v. NOORDEN
0,001543	0,001895	0,814	J. OTTO
0,001184	0,001453	0,815	J. OTTO.

L'avidità con cui l'emoglobina fissa quantità anche piccolissime di O, di CO, di NO^2, di CO^2 è tale ch'essa può servire a scoprire tracce di questi gas. Le combinazioni di emoglobina con questi gas hanno dei caratteri speciali che servono a distinguerle e che studieremo in seguito. Le soluzioni di emoglobina, che sono più oscure, più violette di quelle di ossiemoglobina aventi eguale concentrazione, non vengono alterate dall'etere e dal cloroformio; l'alcool forte le precipita, alterando il proteide; le precipita anche il $HgCl^2$, non il $AgNO^3$, che solamente le imbrunisce.

Riscaldata in soluzione acquosa, l'emoglobina si scinde in una sostanza proteica che coagula e in **emocromogeno**; trattata con alcali, si scinde nello stesso modo, e la proteina si converte in alcaliproteina; trattata con acidi, si verifica la stessa scissione, e la proteina si trasforma in acidoproteina, mentre l'emocromogeno, a lungo andare, specialmente sotto l'azione di acidi minerali forti, perdendo il Fe, si trasforma in **ematoporfirina.** Queste e le altre reazioni comuni

all'ossiemoglobina debbono naturalmente essere fatte fuori del contatto dell'aria.

§ 64. L'**ossiemoglobina** è la combinazione dell'emoglobina con l'O. Questo proteide si trova non solo nel sangue di tutti i vertebrati, ma anche in alcuni invertebrati, per esempio nel *Lombricus terrestris*, nelle larve di *Chiromus*, nell'*Arenicola piscatorum*, nella *Nephelis*, ecc. È una sostanza di colore rosso vivo, solubile in acqua e più ancora in carbonati alcalini e in soluzioni albuminose, più o meno facilmente cristallizzabile, i cui cristalli sono policroici e birefrangenti e presentano, immediatamente dopo la loro formazione, uno splendore setaceo quando sono agitati nelle loro acque madri. Per lo più sono microscopici, ma qualche volta (nel cane) sono visibili ad occhio nudo.

Le ossiemoglobine del sangue dei diversi animali non sono identiche: esse differiscono per la forma cristallina, per il contenuto in acqua di cristallizzazione, per il grado di solubilità, per la composizione centesimale e per la diversa resistenza ai reagenti chimici.

Nella seguente tabella (di PREYER) sono insieme aggruppati alcuni dei caratteri fisici di varie ossiemoglobine: forma cristallina, grado di solubilità, grado di cristallizzabilità.

Tabella trentesima.

Animale	Forma cristallina	Solubilità (in acqua fredda)	Cristallizzabilità
Uomo . .	Prismi ortorombici, in rettangoli allungati e rombi aventi un angolo di 54°,6; prismi con 4 piani.	Molto solubili	Diffic. cristallizzabili
Scimmia .	Piccole tavolette ortorombiche.	Molto solubili	Cristallizz. difficil.
Scoiattolo	Tavolette o prismi esagonali, talora cristalli rombici, spesso uniti in rosette.	Pochissimo solubili	Facilmente cristallizzabili
Gatto . .	Prismi ortorombici a 4 piani.	Poco solubili	Cristallizzano bene
Cane . .	Prismi ortorombici a 4 piani o a faccette piramidali.	Poco solubili	Cristallizzano facilmente
Cavia . .	Tetraedri ad angoli di 60° circa, del sistema ortorombico.	Pochissimo solubili	Cristallizzano facilmente
Cavallo .	Tavolette ortorombiche e prismi fini.	Solubilissimi	Cristallizzano facilmente
Coniglio .	Cristalli rettangolari; rombi allungati.	Solubilissimi	Cristallizzano molto difficilmente
Montone .	Prismi ortorombici.	Solubilissimi	Cristall. difficilmente
Bove . .	Prismi	Solubilissimi	Crist. molto difficil.
Maiale .	Prismi aciculari piccoli.	Solubilissimi	Crist. molto difficil.
Piccione .	Sferoidi.	Poco solubili	Cristallizzano difficil.
Oca. . .	Tavolette rombiche o esagonali piccole.	Molto solubili	Cristallizzano molto difficilmente
Rana . .	Prismi.	Molto solubili	Crist. molto difficil.
Tinca . .	Piccole tavolette sottili.	Molto solubili	Crist. molto facilm.
Lombrico	Aghi tenuissimi.	Molto solubili	Cristallizzano facil.

L'ossiemoglobina pura è insolubile in alcool, etere, cloroformio: l'alcool assoluto la trasforma in **paraemoglobina**, e toglie ai cri-

stalli puri il loro colore, il loro splendore e la doppia refrangenza (PREYER).

Preparazione dell'ossiemoglobina. — 1. **Metodo di** HOPPE-SEYLER. — Si centrifuga del sangue defibrinato, diluito con soluzione 1 % di Na Cl, e si lava più volte con la stessa soluzione la poltiglia corpuscolare, centrifugando tutte le volte. Finalmente la detta poltiglia viene sciolta in H^2O in un gran pallone e trattata con poco etere. Si agita e mescola la massa contenuta nel pallone, la si raffredda; quindi si decanta l'etere e si filtra a freddo; al filtrato si aggiunge un quarto del suo volume di alcool raffreddato a 0° C, e la si abbandona ad una temperatura di — 5° o — 10° C. In capo ad alcune ore, abbondanti cristalli di ossiemoglobina si sono separati; si filtra; si lavano i cristalli con un miscuglio raffreddato a 0° C di 1 vol. d'alcool con 4 vol. di acqua.

Novamente si sciolgono i cristalli in acqua riscaldata a 20-30° C, quindi si raffredda la soluzione e vi si aggiunge dell'alcool freddo, come la prima volta; i cristalli precipitano di nuovo. Ripetendo questa operazione più volte, si giunge ad ottenere un preparato mediocremente puro.

Si distende finalmente la massa cristallina sopra lastre di vetro, in uno strato sottile, e la si lascia disseccare all'aria a 18°-20° C.

Perchè la dissoluzione degli eritrociti sia completa, si può aggiungere a 1 volume di corpuscoli, 3 volumi di H^2O e alcune gocce d'etere, e scaldare a 35° C.

Per separare gli stromi, è necessario servirsi di una buona centrifuga, poichè l'aggiunta di sostanze che ne facilitino la spontanea precipitazione [NH^3 da neutralizzare in seguito con un volume determinato di H Cl (ZINNOFFSKY), acqua di barite, cloridrato di protamina, solfato monopotassico (WOOLDRIDGE), ecc.] altera la normale composizione dell'ossiemoglobina. In tal modo, centrifugando e filtrando più volte la soluzione di corpuscoli rossi, si può ottenere un liquido limpidissimo, contenente pochissimi pezzetti di stromi. Per agevolare l'eliminazione degli stromi, si deve agitare più volte la massa cristallina (dopo il raffreddamento) con il liquido di lavaggio; gli stromi si depositano più lentamente dei cristalli, e possono quindi essere allontanati decantando rapidamente (HUEFNER).

È necessario eseguire tutte queste operazioni a bassa temperatura, essendo i cristalli molto solubili; HUEFNER centrifugava perfino in tubi refrigeranti. In alcune specie di sangue, basta sciogliere i corpuscoli rossi, e raffreddare la soluzione, perchè la cristallizzazione del proteide segna spontaneamente (porcellino d'India, scoiattolo, topo). Nel sangue di cane, cavallo e gatto la cristallizzazione dev'essere aiutata dall'aggiunta di alcool e dal raffreddamento. Nel sangue di uomo, di coniglio e di montone, la cristallizzazione è sempre lentissima; ed ancora più difficile è ottenere cristalli dell'ossiemoglobina dal sangue di maiale, di bove e di rana.

Queste differenze dipendono dal vario grado di solubilità dell'ossiemoglobina dei diversi animali, la facile cristallizzazione essendo in ragione inversa della sua solubilità.

Grandi difficoltà s'incontrano a preparare i cristalli d'ossiemoglobina da eritrociti nucleati, e dipendono dalla tenacia con cui le sostanze nucleiniche dei nuclei aderiscono al proteide, con cui sarebbero anzi, secondo alcuni, combinate. Secondo JAQUET, la poltiglia corpuscolare separata con la centrifugazione si scioglie in egual volume d'acqua, aggiungendovi $^1/_3$ volume di etere: il liquido, in cui gli eritrociti si trovano distrutti, presenta una consistenza gelatinosa molto fluida. Si scalda a 35° C per qualche tempo, nel qual modo si formano grossi coaguli colorati in rosso oscuro, che vengono separati ed eliminati mediante la centrifugazione. Il liquido limpido decantato viene ora filtrato, e su questo si ripetono le operazioni sopra descritte.

Altri caratteri fisici delle ossiemoglobine. — Tutte le ossiemoglobine in soluzione 0,1-0,5 %, o il sangue stesso convenientemente diluito con acqua, presentano uno spettro caratteristico e identico: fra le linee D ed E di FRAUENHOFER appariscono due strie d'assorbimento. La prima (α) più vicina alla linea D è più stretta ed ha contorni più netti dell'altra. L'estremità violetta dello spettro è oscura fino in prossimità della linea F. Se la soluzione del proteide è molto diluita (0,003 %) rimane visibile la sola prima stria d'assorbimento, mentre la seconda (β) scomparisce; crescendo la concentrazione della soluzione, le due strie diventano sempre più larghe, finchè si confondono insieme; da ultimo la parte oscura dell'estremità violetta dello spettro lo invade tutto, e si ha un'oscurità uniforme da per tutto.

Secondo PREYER sono pleocroitici i cristalli d'emoglobina ridotta, le soluzioni di emoglobina prive di O, l'emoglobina nel sangue venoso o conservato in un'atmosfera di CO^2 o di N, mentre i cristalli di ossiemoglobina o le soluzioni di questa sostanza sono monocroitici (BRÜCKE). Le soluzioni di ossiemoglobina purissima non diffondono, ma si comportano come soluzioni di colloidi (PREYER); hanno però un attrito interno immensamente minore di quello di soluzioni egualmente concentrate di altre sostanze proteiche non cristallizzabili spontaneamente (BOTTAZZI), e in ciò si comportano come soluzioni di cristalloidi.

Proprietà chimiche e reazioni dell'ossiemoglobina. — L'ossiemoglobina è una sostanza molto alterabile, che, secca, può essere scaldata fino a 110°-115° C senza che si scomponga, ma in soluzione acquosa coagula a circa 64-68,5° C, mentre si distacca dalla molecola del proteide il gruppo pigmentato dell'ematina. Non è propriamente l'ossiemoglobina che coagula, ma la sostanza proteica (globulina) che se ne distacca a quella temperatura.

Abbandonata all'aria, in soluzione acquosa, si trasforma in metemoglobina. A contatto degli alcali caustici, discretamente concentrati, si altera. Gli acidi minerali, anche diluiti, scompongono l'ossiemoglobina, precipitandone il gruppo proteico non pigmentato; ma gli acidi organici diluiti (acetico, ossalico, tartarico) e l'acido fosforico la scompongono, senza produrvi precipitazione.

L'ossiemoglobina in soluzione non è precipitata dai sali di molti metalli pesanti, come dall'acetato di piombo basico o neutro, dal $Hg\,Cl^2$, dal $Ag\,NO^3$, ecc., ecc. Il solfato di magnesio, il solfato d'ammonio, il cloruro sodico, ecc., aggiunti in sostanza fino a saturazione del liquido, non la precipitano. Sebbene però l'ossiemoglobina non sia precipitata dal maggior numero dei sali minerali che precipitano le proteine, essa viene facilmente trascinata da precipitati proteici, meccanicamente; onde non si può utilizzare quella proprietà per preparare soluzioni pure di ossiemoglobina. Solo le sostanze che

scompongono l'ossiemoglobina sono in grado di produrre un precipitato, che è quasi sempre costituito dalla sostanza proteica che si è distaccata durante il trattamento del proteide. Così, per esempio, l'acido acetico e il ferrocianuro potassico, che per sè soli non precipitano l'ossiemoglobina, aggiunti insieme la precipitano, scomponendola; lo stesso dicasi dell'acetato di piombo e ammoniaca.

Le soluzioni di ossiemoglobina dànno le reazioni colorate delle sostanze proteiche (xantoproteica, di MILLON, del biureto), le quali naturalmente sono anche dovute al gruppo proteico della molecola.

L'ossiemoglobina, come gli altri proteidi, ha le propriotà d'un acido debole; arrossa la carta di tornasole blu (PREYER), e si deposita in cristalli al polo positivo nell'elettrolisi del sangue (SCHMIDT, ROLLETT), libera il CO^2 dal Na^2 CO^3 nel vuoto (PREYER, HOPPE-SEYLER), anche a freddo.

L'ossiemoglobina, aggiunta a un miscuglio di essenza di trementina ozonizzata e di tintura di guaiaco, produce una colorazione blu, agendo, dicesi, come **ozonofora,** trasportando cioè l'ozono dall'essenza di trementina alla resina di guaiaco. Secondo PFLUEGER l'emoglobina potrebbe anche produrre ozono dall'ossigeno atmosferico. Infatti, se si lascia seccare una goccia di tintura di guaiaco sulla carta e vi si versa sopra del sangue diluito 5-10 volte, vi si produce una macchia blu. L'esperienza riesce anche, fuori del contatto dell'aria, con sangue saturo di ossido di carbonio.

Riduzione dell'ossiemoglobina. — In vari modi si può trasformare l'ossiemoglobina in emoglobina: sottraendole l'O mediante il vuoto torricelliano, facendone attraversare una soluzione da un gas indifferente (N, H), o trattandola con reagenti riduttori. Questi sono: *a*) il **reattivo** di STOKES, che si prepara aggiungendo a una soluzione di solfato ferroso un po' d'acido tartarico o citrico e poi dell'ammoniaca fino a rendere alcalino il liquido (soluzione ammoniacale di tartrato di ferro, che dev'essere preparata di fresco ogni volta che si vuole adoperarla); *b*) una soluzione ammoniacale di tartrato stannoso, che non si annerisce come la precedente assorbendo ossigeno, ma che dev'essere anche preparata di fresco; *c*) il solfuro d'ammonio, che però riduce più lentamente a freddo, ma prontamente a caldo; *d*) l'idrosolfito di sodio. La medesima riduzione dell'ossiemoglobina si osserva nella sua putrefazione.

Composizione chimica dell'ossiemoglobina. — La composizione chimica centesimale dell'ossiemoglobina cristallizzata risulta dalla seguente tabella.

Tabella trentunesima.

Ossiemoglobina di	C	H	N	S	Fe	O	P^2O^5	H^2O	Autori
Cane . . .	53,85	7,32	16,17	0,39	0,43	21,84	—	(4-10)	HOPPE-SEYLER.
» . . .	54,57	7,22	16,38	0,568	0,336	20,93	—		JAQUET.
Cavallo . .	54,87	6,97	17,31	0,650	0,470	19,73	—	(4)	KOSSEL.
» . .	51,15	6,76	17,94	0,390	0,335	23,43	—		ZINNOFFSKY.
Bue . . .	54,66	7,25	17,70	0,477	0,400	19,543	—	—	HUEFNER.
Maiale . .	54,17	7,38	16,23	0,660	0,430	21,360	—	(6)	OTTO.
» . .	54,71	7,38	17,43	0,479	0,399	19,602	—		HUEFNER.
Cavia . .	54,12	7,36	16,78	0,580	0,480	20,680	—	(7)	HOPPE-SEYLER.
Scoiattolo .	54,09	7,39	16,09	0,400	0,590	21,440	—	(9,4)	Id.
Oca . . .	54,26	7,10	16,21	0,590	0,430	20,690	0,77	—	Id.
Pollo . . .	52,47	7,19	16,45	0,857	0,335	22,500	0,197	(9,3)	JAQUET.

Le differenze non trascurabili che risultano da questa tabella (non si sa precisamente se il P trovato nell'emoglobina degli uccelli appartenga propriamente alle sostanze nucleari) si accordano con le altre variazioni delle proprietà fisiche e chimiche nel confermare l'opinione ormai prevalente della molteplicità delle ossiemoglobine (ved. in seguito).

BONDZYNSKI e ZOJA ossidarono l'**emoglobina** (preparata secondo il processo di ZINNOFFSKY) con permanganato potassico, e trovarono che il prodotto d'ossidazione bianchissimo conteneva in media: C 52,32 %; H 6,96 %; N 16,04 %. L'emoglobina richiede una quantità di permanganato potassico maggiore dell'albumina d'ovo e della caseina per dare il prodotto acido di ossidazione, come si poteva prevedere dalla disposizione speciale ch'essa ha ad assumere O. Il rapporto $\frac{C}{N}$ nel prodotto acido d'ossidazione è di 3,25, mentre per l'albumina (globina) dell'emoglobina è 3,08. Nelle diverse frazioni ottenute precipitando frazionatamente dalle soluzioni in acetato di sodio il prodotto acido di ossidazione della emoglobina con HCl, si osservano differenze nel comportamento loro di fronte agli acidi diluiti, essendo alcune — le prime — in essi facilmente solubili, le ultime insolubili. Ciò fa pensare che si possano ottenere due diversi prodotti di ossidazione.

BERTIN-SANS e MOITESSIER sono riusciti ad ottenere l'ossiemoglobina per sintesi dai prodotti della sua scomposizione, vale a dire facendo agire sopra una soluzione della speciale sostanza proteica dell'ossiemoglobina, una soluzione acida di ematina. Questo miscuglio diluito e neutralizzato dà prima lo spettro della metemoglobina acida, ma trattato con solfuro d'ammonio presenta lo spettro dell'ossiemoglobina e poi dell'emoglobina, e finalmente trattato con una corrente d'aria o d'O, di nuovo lo spettro dell'ossiemoglobina.

Dalle analisi di ZINNOFFSKY e JAQUET, e basandosi sul rapporto stabilito tra Fe e S, risulta che il peso molecolare minimo dell'ossiemoglobina di cavallo e la formula corrispondente sono:

$$C^{712}\,H^{1130}\,N^{211}\,S^{2}\,Fe\,O^{215} = 16770;$$

e di quella di cane:

$$C^{758}\,H^{1203}\,N^{195}\,S^{3}\,Fe\,O^{218} = 16669.$$

Ma ancora per un'altra via si può giungere a stabilire il peso molecolare dell'ossiemoglobina, e cioè deducendo questo dalla quantità di O fissata dall'unità in peso del proteide, ammettendo che **una molecola di O si fissi ad una molecola di emoglobina.** Ma poichè non si riesce a ottenere tutto l'O,

nè mediante il vuoto nè mediante lo spostamento con CO, HUEFNER pensò di determinare la quantità di CO fissata dall'unità in peso di emoglobina spostando questo gas con NO^2. Egli trovò che 1 gr. d'emoglobina di cavallo fissa, a 0° C e 1 m. di pressione, cmc. 1,39 = mmgr. 2,288928 di CO. Ammettendo che, come l'O, **anche il CO si fissi molecola a molecola**, essendo 28 il peso molecolare di questo gas, si ha:

$$\frac{1000}{2,288928} = \frac{x}{28}; x = 12232,$$

che sarebbe il peso molecolare della carbossiemoglebina, onde si deduce quello dell'ossiemoglobina, che sarebbe 12220 il quale porterebbe a stabilire la seguente formula grezza:

$$C^{553} H^{871} N^{151} S^2 Fe O^{144} (= 11610),$$

che, come si vede, è molto inferiore a quella di ZINNOFFSKY.

Il peso molecolare delle ossiemoglobine di cane e di porco, calcolato secondo lo stesso metodo di HUEFNER, sarebbe rispettivamente: 14159 e 13545.

Quantità di O che può fissare l'emoglobina. — Una questione importante è quella di sapere quanto ossigeno può fissare 1 gr. d'emoglobina. Vari metodi si possono impiegare a tale scopo.

1. Si può saturare di O una soluzione d'una quantità nota d'emoglobina, sbattendola in un eccesso di quel gas, e determinare poi il volume di ossigeno che se ne libera quando la si sottopone all'azione del vuoto della pompa a mercurio [1]). Bisogna però tener conto della quantità di ossigeno che rimane sciolta nell'acqua.

2. Si può inoltre agitare delle soluzioni titolate di emoglobina con un eccesso di O, e misurare poi la quantità di O scomparsa dal volume noto adoperato di questo gas. Per far ciò si usa un apparecchio detto **assorbsiometro** [1]).

Dalle ricerche fatte da vari osservatori, a questo riguardo, risultano i dati contenuti nella seguente tabella.

Tabella trentaduesima.

Provenienza dell'ossiemoglobina	100 gr. di emoglobina fissano cmc. di O	Osservatori
Cane	168	HOPPE-SEYLER.
»	155	DYBKOWSKI.
»	162	PREYER.
»	163	WORM-MUELLER.
»	158	HUEFNER.
Cavallo	172	HUEFNER.
Majale	168	OTTO.

Ammettendo teoricamente che **a 1 atomo di Fe emoglobinico corrisponda 1 atomo di O**, il peso p di O fissato da 100 gr. di emoglobina contenente un peso π % di Fe sarà:

$$p = \pi \times \frac{16}{56} = \pi \times 0,2857;$$

e adottando per l'emoglobina del cane la cifra 0,43 %, come esprimente il suo contenuto in Fe, si ha:

$$p = \text{gr. } 0,12285 = \text{cmc. } 85,9,$$

(a 0° C e 760 mm. di pressione).

---

[1]) Per quanto concerne l'estrazione dei gas dal sangue e la descrizione dell'assorbsiometro, ved. PARTE SECONDA: SANGUE.

Questo risultato è però molto basso; ma si giunge, per un calcolo teorico analogo, a un risultato corrispondente ai risultati sperimentali di HUEFNER, che sono i più precisi, ammettendo che **1 atomo di Fe leghi due atomi di O.** Si ha infatti, in questo caso, che 100 gr. di emoglobina fissano circa 171 cmc. di O, ossia **cmc. 1,71 per 1 gr. di emoglobina.** Ciò risulta dai seguenti dati analitici:

Provenienza dell'emoglobina	Fe %	Volume d'O fissato da 100 gr. di emoglobina (calcolato)	(trovato)
Emoglobina di cane . .	0,43	171 cmc.	158 cmc.
Emoglobina di cavallo .	0,47	184 »	172 »

I risultati delle ricerche di ZINNOFFSKY e JAQUET non coincidono però con questi. Questi osservatori hanno trovato che l'emoglobina di cavallo contiene in media 0,335 % di Fe e 0,3899 % di S, e che l'emoglobina del cane contiene in media 0,336 % di Fe e 0,568 % di S; vale a dire che, nel primo, per **1 atomo di Fe vi sarebbero circa 2 atomi di S,** e nel secondo **per 1 atomo di Fe circa 3 atomi di S;** donde segue che nel cavallo e nel cane 100 gr. di emoglobina fissano solamente 133 cmc. di O, ossia parecchio meno di quanto risulta dai calcoli basati sui dati analitici di HUEFNER. Ma ulteriori osservazioni sono necessarie a questo riguardo, specialmente perchè, oltre alle differenze delle medie date dai singoli osservatori, esistono forti oscillazioni nei risultati numerici che formano ciascuna media, la quale però per sè stessa s'avvicina molto alla cifra teorica.

LEBENSTAUM trovò che l'emoglobina del cavallo sciolta in potassa caustica assume gradatamente O fino a contenerne gr. 6,8 %. Nel fissarsi dell'O sull'emoglobina si sviluppa calore (14,77 calorie, per $O^2 = 32$, BERTHELOT).

Ma le difficoltà inerenti a queste determinazioni derivano non solamente dal fatto che la quantità d'ossigeno fissato varia col grado di concentrazione della soluzione di emoglobina, ma anche dal trovarsi più ossiemoglobine in quella soluzione che noi crediamo uniforme.

Diverse ossiemoglobine. — Il BOHR ha infatti dimostrato che dal sangue di cane si possono ottenere almeno quattro varietà di ossiemoglobina, le cui strie d'assorbimento occupano la stessa posizione nello spettro, ma che differiscono fra loro per la quantità di Fe che contengono, per la quantità di O che son capaci di fissare, per il loro peso molecolare, per il decorso della dissociazione [1]) loro in ossigeno ed emoglobina sotto l'azione del vuoto, e per il rapporto d'assorbimento misurato allo spettrofotometro [1]).

Egli si fondò sulle grandi divergenze esistenti fra i risultati delle analisi di ossiemoglobina fatte da diversi autori, e riuscì a dimostrare che queste divergenze son dovute non ad errori analitici, ma all'esistenza di più varietà di ossiemoglobina. Egli trovò che il contenuto in Fe può variare da 0,316 a 0,461 %, la quantità di O fissata da 100 gr. di emoglobina da 101 a 138 cmc. (a 0° C e 760 mm. di pressione), il peso molecolare (determinato col metodo crioscopico di RAOULT) da 3000 a 15,200, il rapporto d'assorbimento per la regione $\lambda = 545$ determinato con lo spettrofotometro di GLAN o con quello di VIERORDT-KRUESS da 1 a 1,4 circa. Ma egli fece di più: tentò d'individualizzare le varie ossiemoglobine, che distinse con le lettere α, β, γ, δ.

Un grammo di queste varie emoglobine assorbe rispettivamente circa 0,4 (α); 0,8 (β); 1,7 (γ); 2,7 (δ) cmc. di O alla temperatura ambiente e sotto una pressione parziale di O pari a 150 mm. di Hg. L'ossiemoglobina γ sa-

[1]) Studieremo le curve di dissociazione dell'ossiemoglobina, lo spettrofotometro e le sue applicazioni, e i metodi di determinazione quantitativa dell'ossiemoglobina, nel cap. del SANGUE.

rebbe quella che ordinariamente si ottiene coi comuni metodi di preparazione; e l'ossiemoglobina α sarebbe la γ disseccata all'aria. La α disciolta in acqua si trasforma in ossiemoglobina β, aumentando il suo contenuto in Fe. L'ossiemoglobina γ conservata in soluzione entro tubi fusi alla fiamma si trasforma in ossiemoglobina δ per cause sconosciute.

Tuttavia, senza volere infirmare le osservazioni del BOHR, non è ancora ben certo se queste varie ossiemoglobine preesistano nel sangue normale o non siano che prodotti artificiali di preparazione di una sola ossiemoglobina.

§ 65. Semplici modificazioni dell'ossiemoglobina sono la **paraemoglobina**, la **pseudoemoglobina** e la **metemoglobina**.

La **paraemoglobina** (NENCKI e SIEBER) si forma sotto l'azione prolungata dell'alcool assoluto a freddo, cristallizza in prismi corti e spessi, birefrangenti, aventi le strie d'assorbimento dell'ossiemoglobina e la seguente composizione centesimale: C 54,91; H 7,04; N 17,04; S 0,68; Fe 0,468; O 19,86. Modificazioni *para* dànno anche la carbossiemoglobina e la metemoglobina.

La **pseudoemoglobina** (SIEGFRIED) sarebbe una speciale combinazione di emoglobina e di O, che si formerebbe durante l'azione riduttrice dell'idrosolfito di sodio.

La **metemoglobina** (HOPPE-SEYLER, 1864-1865; PREYER, 1868) è caratterizzata dal fatto che, durante la decomposizione spontanea dell'ossiemoglobina, o negli antichi stravasi di sangue, o sotto l'azione degli acidi, ecc., del permanganato di potassio, del clorato potassico, del ferrocianuro potassico, ecc., del nitrito d'amile e di molte sostanze della serie aromatica, una parte dell'O si fissa allo stato di combinazione più stabile e non dissociabile nel vuoto. Tale trasformazione dell'ossiemoglobina ha luogo più facilmente nelle sue soluzioni acquose che quando si trova ancora incorporata negli eritrociti.

Preparazione della metemoglobina. — 1. Si aggiunge una piccola quantità di ferricianuro potassico a una soluzione concentrata di ossiemoglobina o di globuli rossi, e si agita a lungo; poi si raffredda a 0° C e si aggiunge $^1/_4$ di vol. d'alcool assoluto freddo. Dal liquido lasciato in un bagno refrigerante si separano cristalli aciculari bruni di metemoglobina, che si possono ricristallizzare.

2. Secondo HALLIBURTON, si agitano pochi cmc. di sangue defibrinato con alcune gocce di nitrito d'amile; poi si distende il miscuglio sopra un portaoggetti e lo si ricopre con un coproggetti; tosto si forma una gran quantità di cristalli, che si possono osservare al microscopio.

Proprietà fisiche e chimiche della metemoglobina. — La metemoglobina è meno solubile in acqua dell'ossiemoglobina corrispondente, insolubile in alcool ed etere. Le soluzioni acquose diluite hanno un color giallo rossastro; concentrate sono rosso-brune; sono in generale molto stabili; presentano (acide) 4 strie d'assorbimento: la prima α ($\lambda = 633$) fra le linee C e D più vicina a C, la seconda β ($\lambda = 580$) e la terza γ ($\lambda = 538,5$) fra D ed E occupanti press'a poco la posizione

delle due strie dell'ossiemoglobina, la quarta δ ($\lambda = 500$) fra E ed F separata da uno spazio non molto chiaro dall'estremità violetta oscura dello spettro.

I rapporti d'assorbimento Am e $A'm$ per le regioni spettrali D 11 E-D 32 E e D 53 E-D 63 E dello spettro (metemoglobina acida) sono (HUEFNER e OTTO):

$$Am = 0{,}002602; \quad A'm = 0{,}001014.$$

Quando si fa agire il H^2S insieme con aria sul sangue fatto color lacca o sopra una soluzione di emoglobina, si forma un pigmento rosso-verde, non ancora isolato, che da HOPPE-SEYLER fu detto **solfometemoglobina**, che sembra esser la causa del color verdastro degli organi in putrefazione. Questa sostanza in soluzione acquosa neutra presenta un colore verde oscuro e due strie d'assorbimento: una α fra C e D più vicina a C, e l'altra β più oscura nel mezzo di C-D. Quest'ultima sparisce per l'aggiunta di Na OH.

Esiste anche una combinazione dell'emoglobina con acido cianidrico detto **cianometemoglobina**, e un'altra con acetilene.

§ 66. **Combinazioni dell'emoglobina con altre sostanze. — 1. Carbossiemoglobina.**

Sua preparazione. — Se si tratta una soluzione concentrata di ossiemoglobina tenuta a freddo con una corrente di CO sino a saturazione, si agita poi fortemente il liquido, gli s'aggiunge $^1/_4$ o $^1/_3$ del suo volume di alcool, e lo si lascia in un miscuglio frigorifero, si deposita dopo un certo tempo una considerevole quantità di cristalli di carbossiemoglobina, che possono essere raccolti e lavati con alcool diluito e freddo. Si può preparare la sostanza anche direttamente dal sangue trattato prima con CO.

I cristalli di carbossiemoglobina sono isomorfi con quelli delle corrispondenti ossiemoglobine, ma hanno un colore rosso un po' bluastro. Le soluzioni hanno una tinta rosso-ciliegia chiara, e presentano una immagine spettrale molto simile a quella dell'ossiemoglobina, senonchè le due strie sono, a concentrazione eguale, più pallide, con margini più diffusi, alquanto spostate verso il violetto, e lasciano fra loro uno spazio chiaro molto meno brillante. Le proprietà spettrali di queste soluzioni risultano dalla seguente tabella.

Soluzioni di carbossiemoglobina	I stria (λ)	II stria (λ)	Aco	$A'co$	$\frac{Aco}{A'co}$	Osservatori
Più concentrata . .	582,5-561,6	550,5-522,2	—	—	—	HOPPE-SEYLER
Meno concentrata .	580,8-558,8	546,5-522,2	—	—	—	
Di sangue di cavallo	—	—	0.001124	0.000999	1.13	BUECHELER e KUELZ
Di sangue di porco .	—	—	0,00113	0,00100	1.13	

La carbossiemoglobina è più stabile dell'ossiemoglobina, il cui O è spostato dal CO, che non abbandona la sostanza nemmeno nel vuoto

e a caldo. Tuttavia l'O, l'CO^2, l'H, agendo in gran quantità e lungamente, riescono a spostare lentamente del CO dal sangue che ne è stato saturato; e facilmente lo sposta il NO^2, che, come vedremo, contrae con l'emoglobina una combinazione ancora più stabile. I riduttori non esercitano alcuna azione sulla carbossiemoglobina, che resiste anche alla putrefazione. Tuttavia molto lentamente in presenza di O libero una parte del CO si trasforma in CO^2.

La fissazione del CO sull'emoglobina è accompagnata da uno sviluppo di circa 18,7 calorie, per CO = 28 (BERTHELOT).

Le reazioni più comuni della carbossiemoglobina non differiscono in modo degno di nota da quelle dell'ossiemoglobina. Degno di nota è il fatto che, trattando con acido solforico diluito e a caldo fuori del contatto dell'aria una soluzione di carbossiemoglobina, questa si scompone dando un coagulo rosso e dell'ematoporfirina, mentre il CO è messo in libertà. La carbossiemoglobina si trasforma assai difficilmente in metemoglobina.

Reazioni particolari della carbossiemoglobina. — Reazioni colorate. *a*) Si diluisce il sangue con 20 volumi di acqua distillata e lo si tratta con un volume eguale di soluzione di Na OH della densità 1,34. Si presenta un intorbidamento biancastro e poi il liquido prende un colore rosso chiaro vivissimo. Lasciato questo in riposo, si separano alla sua superficie dei grumi rosso-chiari, mentre il liquido rimane debolmente roseo. Dopo 24 ore il precipitato si ridisciogliе e il liquido torna rosso vivo. (Il sangue normale, trattato nello stesso modo, dà un liquido bruno sporco) (HOPPE-SEYLER, SALKOWSKI). *b*) Se si tratta il sangue ossicarbonico con 4-5 volumi di soluzione di sottoacetato di piombo e si agita fortemente per un minuto, il liquido rimane rosso vivo (mentre il sangue normale diventa bruno). Con questa reazione si scopre 1 parte di sangue saturato di CO su 8-9 parti di sangue normale (RUBNER).

In generale, il sangue normale dà precipitati bruni, il sangue saturo di CO precipitati rossastri.

Reazioni spettroscopiche. — Si diluisce il sangue con H^2O 40-60 volte il suo volume e lo si osserva allo spettroscopio in uno strato di 1 cm. Aggiungendo un po' di soluzione di idrosolfito di sodio, l'ossiemoglobina è ridotta istantaneamente, ma la carbossiemoglobina rimane inalterata. Se il sangue contiene 20 % di sangue ossicarbonico, si vede l'unica stria appartenente all'emoglobina alquanto chiara nella sua linea mediana; e se ne contiene il 30 %, la banda chiara centrale diventa evidentissima.

Sottoponendo il sangue all'azione del vuoto e trattandolo contemporaneamente alla temperatura di circa 65° C. con un volume eguale di soluzione satura a freddo di acido tartarico, si riesce ad estrarre l'CO e farne la determinazione diretta.

2. **Carbodiossiemoglobina.** — È la combinazione del CO^2 con l'emoglobina, ed ha una grandissima importanza fisiologica nel trasportare verso i polmoni il CO^2 prodotto dai tessuti.

Se si fa passare una forte corrente di CO^2 a traverso una soluzione acquosa di ossiemoglobina, a freddo, non si osserva alcun intorbidamento del liquido, che solo presenta un debole riflesso violetto. Ma se si fa agire il CO^2 sopra una soluzione di emoglobina intieramente priva di O, questa ne rimane decomposta in parte, come per l'azione di altri acidi; il liquido diventa oscuro, e ciò non è dovuto semplicemente alla formazione di carbodiossiemoglobina, poichè il successivo trattamento con O non gli ridà più il colore rosso chiaro primitivo. Alcuni affermano che si produce anche un precipitato biancastro fioccoso, che non si ridiscioglie più scacciando il CO^2; ma ciò è, almeno in parte, dovuto al fatto che la soluzione conteneva una certa quantità di globuline, come impurità dell'emoglobina. Del resto, una scomposizione dell'emoglobina, sotto l'azione del CO^2, risulta anche dalle ricerche di HAMBURGER e mie, secondo le quali i corpuscoli rossi del sangue trattato con CO^2 perdono quantità considerevoli di sostanza proteica, la quale, almeno in parte, bisognerà ammettere che derivi dall'emoglobina.

Lo spettro della carbossiemoglobina somiglia molto a quello dell'emoglobina; ma la prima assorbe più fortemente i raggi verdi e verdi-blu, e inoltre per l'emoglobina TORUP trovò $\lambda = 559,2$ e per la carbossiemoglobina $\lambda = 553,3$.

Diverse carbodiossiemoglobine. — Secondo BOHR, esisterebbero diverse carbodiossiemoglobine come esistono diverse ossiemoglobine; egli ha distinto la **carboemoglobina** β, γ, δ.

Egli ha inoltre trovato: 1.° che l'assorbimento massimo del CO^2 da parte dell'emoglobina non si raggiunge nemmeno con la pressione più forte cui si possa sottoporre il CO^2; 2.° che se la pressione minima non è molto vicina a zero, le quantità di CO^2 assorbite o messe in libertà dalla carboemoglobina sono indipendenti dalla temperatura; 3.° che la quantità di CO^2 fissata dalla emoglobina non è influenzata dalla presenza dell'ossigeno: 4.° che l'O può essere assorbito dall'emoglobina nello stesso tempo del CO^2, onde si può supporre che mentre il primo è fissato dal nucleo pigmentato dell'emoglobina, il secondo sia fissato da una parte diversa della sua molecola, sebbene la diminuzione del potere d'assorbimento per l'O che l'emoglobina rivela in presenza di CO^2 dimostri che questo forse ne altera in parte la normale costituzione. Si può pensare che il CO^2 si fissi sulla parte proteica dell'emoglobina, ma le differenze che presentano i due spettri dell'emoglobina e della carbossiemoglobina fanno sospettare che il CO^2 si fissi anche, almeno in parte, sul gruppo pigmentato.

3. **Nitrodiossiemoglobina.** — Il NO^2 si combina facilmente con l'emoglobina, e sposta l'O e il CO dalle loro combinazioni con essa (HERMANN). I cristalli di questa sostanza sono isomorfi con quelli dell'ossiemoglobina e della carbossiemoglobina, e le loro soluzioni presentano le stesse strie d'assorbimento della prima, con la sola

differenza che le due strie d'assorbimento fra D ed E sono sensibilmente più pallide. I riduttori non esercitano alcuna azione su queste soluzioni, e i gas indifferenti non riescono a scacciare il NO^2.

§ 67. **Prodotti di scomposizione delle sostanze coloranti del sangue.** — Abbiamo detto che l'emoglobina e l'ossiemoglobina sono dei proteidi che, scomponendosi sotto l'azione di vari reagenti fisici e chimici, dànno luogo alla separazione di una proteina (della categoria delle globuline) e di una sostanza pigmentata che contiene tutto il Fe. Schematicamente la scomposizione avverrebbe nel seguente modo:

Ossiemoglobina { globulina, ematina; Emoglobina { globulina, emocromogeno.

Secondo STRUVE, l'emoglobina sarebbe composta da sostanza proteica incolora, priva di Fe e dal 5 % d'**acido ematinico** e d'**acido emico**, due pigmenti contenenti ferro.

1. **Ematina.** — L'ematina si trova dovunque avvenga scomposizione di ossiemoglobina: nel tubo digerente, negli antichi stravasi, nell'orina, ecc. Essa si presenta come una polvere amorfa, bruna o blu nerastra, inodora, insipida, insolubile in acqua, in acidi diluiti, alcool, etere, cloroformio; solubile a caldo in acido acetico glaciale e a freddo in HNO^3. È molto solubile in alcool ed etere acidificati e in alcali anche molto diluiti. Queste soluzioni alcaline sono dicroiche, le acide sempre brune.

Le soluzioni acide presentano quattro strie d'assorbimento: una α fra C e D ($\lambda = 627 - 633$); un'altra fra D ed F molto larga a margini meno netti, la quale con uno spessore conveniente del liquido si risolve in due strie più strette, di cui una β è situata fra D ed E e l'altra γ fra b ed F; finalmente una stria δ assai debole fra D ed E, ma più vicina a D. Ma frequentemente non si osserva che la stria nel rosso e la stria larga fra D ed E, semplice o sdoppiata. Le soluzioni alcaline d'ematina presentano una stria d'assorbimento fra C e D che invade anche un po' lo spazio D-E ($\lambda = 618$).

L'ematina non si scompone a 180°-200° C; scaldata ulteriormente, si distrugge lasciando un residuo d'ossido di Fe puro, mentre si sviluppano dei gas aventi odore di CNH e del pirrolo; resiste agli alcali forti, ma non all'H^2SO^4 che, togliendole il Fe, la trasforma in **ematoporfirina**; cede anche il Fe agli acidi citrico e tartarico dopo pochi minuti di ebollizione.

L'ematina è precipitata dalle soluzioni diluite alcaline (in cui non si altera) dall'acqua di calce o di barite; forma delle lacche verdi con alcuni ossidi metallici (di Pb, di Zn, ecc.); si combina fortemente con l'NH^3; resiste moltissimo agli ossidanti, ma non agli ipocloriti e al permanganato potassico, che la scolorano, e nemmeno alla pu-

trefazione che la riduce in emocromogeno. I riduttori (NH^4S, idrosolfito di sodio) la trasformano in **emocromogeno** (**ematina ridotta** di STOKES).

La composizione centesimale dell'ematina è:

C 64,30-64,18; H 5,50-5,67; N 9,20-9,03; Fe 8,83-8,74; O 12,17-12,38 (HOPPE-SEYLER, CAZENEUVE), donde è stata calcolata la formola $C^{34}H^{35}N^4FeO^5$ (HOPPE-SEYLER), o $C^{34}H^{34}N^4FeO^5$ (GAUTIER). (o $C^{32}H^{32}N^4FeO^4$ secondo NENCKI e SIEBER).

Ossidando cautamente l'ematina in soluzione acetica con bicromato sodico, KUESTER ottenne oltre a un corpo ferruginoso l'**acido ematinico bibasico** ($C^8H^{10}O^5$) ben cristallizzabile, dal quale per ulteriore ossidazione si ottiene l'**acido ematinico tribasico** ($C^8H^{10}O^6$) anche cristallizzabile. Questi due acidi sono solubili in etere, e si possono iselare mediante cristallizzazione frazionata dall'acqua.

Emina. — L'**ematina** si combina con HCl, HBr e HI; la prima combinazione, detta **emina**, ha anche importanza dal punto di vista medico-legale, per la ricerca di tracce di sangue.

Preparazione dei cristalli di emina in grande e dell'ematina (HAMMARSTEN). — Per preparare l'ematina si parte sempre dai cristalli di emina.

I corpuscoli rossi, lavati con soluzione isotonica di Na Cl, sono disciolti in H^2O ed etere, il liquido vien filtrato, concentrato e mescolato con 10-20 volumi di acido acetico glaciale e riscaldato sul bagno d'acqua per 1-2 ore. Quindi lo si diluisce con più volumi d'H^2O e lo si lascia in riposo per alcuni giorni. Si deposita una quantità di cristalli, che vengono lavati con acqua, cotti in acido acetico e poi di nuovo lavati con acqua, alcool ed etere (HOPPE-SEYLER).

Ovvero si coagulano i corpuscoli rossi con alcool, si lascia disseccare incompletamente il coagulo all'aria, lo si trita finemente e lo si cuoce in alcool amilico, dopo avere aggiunto un po' di HCl. I cristalli che si depositano dal filtrato dopo il raffreddamento sono poi lavati con acqua, alcool ed etere (NENCKI e SIEBER).

Se ora si sciolgono questi **cristalli di emina** in soluzioni diluite di Na OH o di KOH, si può precipitare l'**ematina** aggiungendo un acido, e da questa ematina si può ottenere di nuovo cristalli puri di emina trattandola con poco Na Cl e acido acetico a caldo.

Preparazione dei cristalli di emina in piccolo. — Per preparare i cristalli di emina o **cristalli di** TEICHMANN in piccola quantità, si pone sul portaoggetti una goccia della soluzione sanguigna ottenuta per macerazione della macchia di sangue, vi si aggiunge una goccia di soluzione 1 % di Na Cl o qualche cristallino dello stesso sale, e si evapora il liquido a una temperatura non superiore a 45° C, per non coagulare le sostanze proteiche ch'esso contiene. Quindi si fa cadere sul residuo secco una piccolissima quantità di acido acetico glaciale, vi si adatta sopra un coprioggetti, e si riscalda di nuovo cautamente finchè l'acido siasi, senza bollire, evaporato. Si lascia raffreddare, e si esamina al microscopio; se la cristallizzazione non è avvenuta si aggiunge dell'acido e si evapora novamente.

I cristalli di emina sono neri bluastri, del sistema clinorombico; appariscono al microscopio in forma di tavolette losangiche o di parallelogrammi allungati, spesso aggruppati in fasci o in sfere stellate, di color giallo o bruno carico, birefrangenti, molto stabili. Essi sono

insolubili in acqua, in acidi diluiti, alcool, etere, ecc.; solubili in acido acetico glaciale, in acidi minerali e in alcali forti, in alcool acidificato. La formola dell'emina, o **cloridato di ematina,** sarebbe $C^{34}H^{34}N^4FeO^5Cl, H^6$ (HOPPE-SEYLER), mentre secondo NENCKI e SIEBER sarebbe $C^{32}H^{30}N^4FeO^3 . HCl$, che con una molecola di H^2O darebbe l'ematina.

Anche il NO^2 si combina con l'ematina, dando la **nitrodiossiematina.**

Col nome di **istoematine** MAC MUNN distinse i pigmenti che si trovano nei tessuti e specialmente nei muscoli **(mioematina)**, e che dànno spettri somiglianti a quelli del pigmento sanguigno (ved. MUSCOLI).

2. **Emocromogeno.** — L'**emocromogeno** (HOPPE-SEYLER) è l'ematina ridotta dal reattivo di STOKES; non è stato ottenuto allo stato cristallino, ma si può prepararlo microscopicamente. Più semplice è ottenerlo dall'ematina, direttamente.

Le sue soluzioni hanno un color rosso-ciliegia, e presentano due strie d'assorbimento: una α netta fra D ed E ($\lambda = 565,3$-$547,4$), l'altra β più pallida e larga copre E e b ($\lambda = 526,9$-$513,9$). L'emocromogeno in soluzione alcalina a contatto dell'aria assorbe rapidamente O, trasformandosi in ematina; quest'ossidazione avviene meno celermente in un mezzo acido che in un mezzo alcalino. Assorbe anche il CO (1 molecola di CO per 1 atomo di Fe). Gli acidi forti, fuori del contatto dell'aria, lo trasformano in ematoporfirina.

3. L'**ematoporfirina** (MULDER) è l'ematina priva di Fe, ed ha la formola $C^{16}H^{18}N^2O^3$ (sarebbe dunque un isomero della bilirubina nella sua antica formola di STAEDELER), o $C^{32}H^{36}N^4O^6$, nel preparato ottenuto da NENCKI e SIEBER, ch'è una polvere amorfa bruno-rossastra, quasi insolubile in acqua, solubile in alcool, in alcali ed in acidi minerali diluiti e nell'acido acetico glaciale. Si può ottenere questa sostanza trattando l'ematina con H^2SO^4, con HCl fumante a 180° o con acido acetico glaciale e HBr.

Le soluzioni alcooliche d'ematoporfirina sono rosse e presentano quattro strie d'assorbimento: una α sopra D che invade lo spazio D-E; l'altra β sopra b che raggiunge a destra la metà dello spazio b-F; una terza γ nel mezzo di C-D, e l'ultima δ fra D ed E, più vicina ad E. Queste ultime due strie sono più pallide e più strette delle prime due. Le soluzioni acide d'ematoporfirina hanno due sole strie d'assorbimento: una più oscura e larga a sinistra di D, e l'altra fra D ed E.

L'ematoporfirina si altera facilmente al calore; calcinata, sviluppa pirrolo; con l'HNO^3 fumante e caldo dà la reazione di GMELIN per i pigmenti biliari; è ridotta dall'ebollizione con stagno e HCl in presenza di alcool, mentre il liquido prende una colorazione gialla intensa e presenta esattamente i caratteri spettrali dell'urobilina

(stria unica fra *b* ed F) e la fluorescenza verde in presenza di NH^3 e $Zn\,Cl^2$.

Si conosce un **cloridrato d'ematoporfirina** ($C^{16}\,H^{18}\,N^2\,O^3$, HCl) in aghi bruni, una **sodioematoporfirina** ($C^{16}\,H^{17}\,Na\,N^2\,O^3$) in piccoli cristalli birefrangenti solubili in acqua.

Secondo NENCKI e SIEBER l'ematoporfirina è un isomero della bilirubina, e queste due sostanze si formerebbero contemporaneamente nella cellula epatica. Forse la prima serve ancora alla ricostruzione dell'emoglobina, mentre la seconda, inutilizzabile, sarebbe eliminata per la bile e in forma di urobilina per l'orina. Infatti l'ematoporfirina, iniettata sotto la pelle, è eliminata in piccolissima quantità, forse perchè è trattenuta e utilizzata dall'organismo.

4. L'**ematoidina** di VIRCHOW sembra essere in alcuni casi della bilirubina, in altri della luteina. Tanto questa, come l'**emosiderina**, sono due pigmenti che si trovano in vecchi stravasi sanguigni e che non hanno forse i caratteri di speciali sostanze chimiche.

§ 68. **Cromoproteidi del sangue di animali inferiori.** — I cromoproteidi più noti, contenuti nel sangue di animali inferiori, sono:

1. L'**emocianina** trovata e descritta da FREDERICQ nel sangue dei cefalopodi, dei crostacei, ecc.

È una sostanza proteica (l'unica contenuta nel sangue di *Octopus*, ecc.) coagulabile a 65-66° C, che dà le reazioni delle sostanze proteiche, la quale assorbendo O assume un bel colore blu più o meno intenso (**ossiemocianina**), mentre in assenza di O è affatto incolore e che si può ottenerla pura dializzando il sangue, in cui si trova disciolta. Ha i caratteri delle globuline, essendo precipitata dall'acido acetico, mediante diluzione e trattamento con CO^2, dal Na Cl, $Mg\,SO^4$, $Na^2\,SO^4$, ecc. aggiunti in sostanza fino a saturazione.

Non presenta vere strie d'assorbimento, ma assorbe fortemente e uniformemente tutto lo spettro.

Questo cromoproteide contiene del Cu, che probabilmente ha, nei fenomeni respiratori di quegli animali, lo stesso ufficio del Fe dell'emoglobina. Se si scinde con un acido l'emocianina, si ottiene un precipitato amorfo privo di Cu, mentre il metallo trovasi tutto nelle ceneri del liquido. Pare dunque che questo proteide risulti anche di un nucleo proteico e di un altro cuprifero, il quale ultimo sarebbe capace di dare con l'H Cl un composto cristallizzante in forma di aghi incolori, e con l'$H\,NO^3$ un altro in piccoli cristalli prismatici.

L'emocianina pura non è stata ottenuta in cristalli dalle sue soluzioni acquose, ma io ho ottenuto dei grossi cristalli d'emocianina e $Mg^2\,SO^4$ (ved. SOST. PROTEICHE).

2. L'**emeritrina** è il cromoproteide che si trova nel sangue di alcuni *Gefirei*; fu osservata per la prima volta da LANKESTER e poi SCHWALBE, e un po' meglio descritta recentemente dal CUÉNOT. Essa non si trova sciolta nella parte liquida del sangue, come l'emocianina, ma inglobata in corpuscoli rossi nucleati, colossali e relativamente abbondanti, come l'ossiemoglobina negli eritrociti, mentre il plasma è quasi affatto incolore.

Ossidata ha un bel colore rosa pallido; ridotta (**emeritrogeno** di KRUKENBERG) è rosso-porpora.

Probabilmente rappresenta il pigmento respiratorio di questi animali (*Sipunculus nudus*, *Phoronis*, ecc.): ma non possiede speciali strie d'assorbimento, e non forma combinazioni cristalline con gli acidi.

Presenta alcuni caratteri della emoglobina: abbandona i corpuscoli quando si diluisce il sangue (del *Sipunculus*) con $H^2\,O$, coagula a circa 70° C, ecc.

3. La **clorocruorina** è anche un pigmento disciolto nel liquido sanguigno, come l'emocianina, che si presenta in due modificazioni: ridotta e ossidata (**ossiclorocruorina**). Questo proteide sembra appartenere a quei pigmenti che, come l'emoglobina, contengono un nucleo colorato di ematina. L'ossiclorocruorina presenta due strie d'assorbimento: una α fra C e D, l'altra β fra D ed E; la clorocruorina una sola stria che ha quasi la stessa posizione della stria α dell'ossiemoglobina.

In generale, però, dobbiamo dire che, eccetto l'emocianina, le nostre conoscenze su questi altri proteidi respiratori sono ancora molto insufficienti.

E. — Gli albuminoidi.

§ 69. **Generalità**. — Diamo il nome di **albuminoidi** a un gruppo di sostanze, le quali, benchè nei caratteri fondamentali somiglino alle altre sostanze proteiche, di cui sopra abbiamo trattato, per molti altri essenzialmente ne differiscono. Gli albuminoidi non esistono nei vegetali, onde bisogna ammettere che si formano, per sintesi o per trasformazione di altri corpi proteici, nell'organismo animale. I caratteri differenziali generali sono i seguenti:

1.° Contrariamente alle proteine e ai proteidi, non coagulano al calore, anzi si disciolgono, trasformandosi in gelatina, la quale col raffreddamento precipita.

2.° Gli albuminoidi non sono precipitati dagli acidi, come quasi tutte le altre sostanze proteiche.

3.° Nell'organismo essi si trovano allo stato solido, formando la sostanza di sostegno, intercellulare dei tessuti, mentre le proteine, le nucleoalbumine si trovano per lo più sciolte nei liquidi e nei succhi, e i proteidi si trovano in uno stato intermedio tra il liquido e il solido a formare gli stromi del citoplasma e dei nuclei. Si potrebbe dire che gli albuminoidi, i quali sono insolubili allo stato naturale, rappresentano una modificazione plastica delle proteine, la quale ha una grande importanza nella genesi e nella struttura dei tessuti.

4.° La composizione centesimale degli albuminoidi non differisce molto da quella delle proteine; però essi contengono meno C e più O; essi sono dunque, come dice Bunge, i prodotti di un primo sdoppiamento e ossidazione delle proteine nell'organismo animale.

Ciò risulta dalla seguente

Tabella trentatreesima.

Elementi	Proteina	Gelatina d'ossa e di connettivo	Gelatina di cartilagine	Collageno	Gelatina purificata
C	50-55	49,3-50,8	47,7-50,2	50,75	50,14
H	6,6-7,3	6,5-6,6	6,6-6,8	6,47	6,69
N	15-19	17,5-18,4	13,9-14,1	17,86	18,12
S	0,3-2,4	0,56 (?)	0,4-0,6 (?)	24,92	—
O	19-24	24,9-26	29,0-31,0		—

5.° Nella molecola dei vari albuminoidi non si trovano tutti i gruppi atomici, di cui abbiamo parlato, trattando delle sostanze proteiche in generale, e che coesistono nella molecola della proteina genuina. In generale, secondo alcuni, mancano agli albuminoidi i nuclei benzolici, che si staccano dalle proteine in forma di tirosina, ecc., mentre dal loro sdoppiamento si formano a preferenza amidoacidi (leucina, acido aspartico, acido glutamico, glicocolla), e inoltre lisina, lisatina e NH^3. La putrefazione non sviluppa dagli albuminoidi nè tirosina, nè indolo o scatolo, sebbene, secondo MALY, i gruppi aromatici esistano nella gelatina. Ma ciò che più caratterizza gli albuminoidi, secondo DANILEWSKY, è che ciascuno di essi rappresenta non un semplice pezzo staccatosi dalla proteina tipica, contenente alcune serie di gruppi atomici definite e costanti, ma è piuttosto un insieme ora di queste ora di quelle serie. Per esempio, la **cheratina** presenta un accumulo di serie aromatiche, mentre nell'**elastina** troviamo un enorme predominio delle serie leuciniche, e il **glutine** contiene prevalentemente delle serie gliciniche. Il **collageno** e il **glutine** mancherebbero affatto di serie aromatiche, sono assai poveri di serie leuciniche e, per contro, come abbiamo detto, molto ricchi di serie gliciniche. Non v'ha dubbio che questi caratteri della costituzione degli albuminoidi hanno un significato profondo e, forse, determinano l'ufficio particolare di ciascuno di essi nell'organismo vivente.

6.° Sembrò dapprima possibile ricostruire la molecola della proteina, combinando un albuminoide con tirosina; ma i tentativi fallirono (LEHMANN). Dall'albuminoide non si riforma proteina (BUNGE), mentre il contrario ha luogo incessantemente nello sviluppo dei tessuti connettivi di sostegno. Si pensi che nel nutrimento dei lattanti e degli erbivori mancano affatto gli albuminoidi, e che ciò non ostante il loro organismo si sviluppa rigogliosamente, fabbricandone dalle proteine.

7.° Gli albuminoidi sono anche caratterizzati da una grande resistenza alle sostanze proteolitiche e agli agenti chimici in generale, mentre noi sappiamo con quale rapidità gli acidi e gli alcali deboli, i succhi digerenti, ecc. modificano le proteine.

8.° Il calore di combustione degli albuminoidi, in confronto di quello delle proteine, è minore. Per ciò, e perchè non hanno capacità istogenetica, essi non possono sostituire le proteine nella nutrizione, onde possono al più valere come sostanze di risparmio.

Mentre HAMMARSTEN usa la parola **albumoidi** come sinonimo di **albuminoidi**, MOERNER ha designato più specialmente col nome di albumoidi delle sostanze da lui trovate nelle cartilagini, nella lente del cristallino e in altri organi, caratterizzate dalla loro insolubilità a qualsiasi temperatura in liquidi neutri. Esse dànno tutte le reazioni delle sostanze proteiche, e, poichè sono anche molto resistenti all'azione dissolvente degli acidi e degli alcali, somigliano all'elastina e alla cheratina. Ma differiscono dalla prima per il loro contenuto in S, e per la loro solubilità nel succo gastrico dalla seconda.

§ 70. **Collageno e gelatina** (o **colla, glutine**). — Il **collageno** forma la parte principale delle fibrille connettivali, la sostanza fondamentale fibrillare delle ossa incrostata di sali calcarei, la sostanza fondamentale dei tessuti cartilaginei, dove si trova mescolato con altre sostanze a formare un corpo prima detto condrigeno (ved. CONDRINA).

Preparazione del collageno. — Se si spezzettano dei tendini, liberati da grasso o altra sostanza estranea, si trattano da prima a lungo con una soluzione neutra debole di Na Cl, per estrarre le proteine, poi con acqua di calce o anche con lissiva potassica diluita, per allontanare la sostanza fondamentale amorfa, interfibrillare, risultante quasi esclusivamente di mucina, e finalmente si lavano ripetutamente con acqua, con acido acetico diluito e di nuovo con acqua, il residuo indisciolto è **collageno** puro. Il collageno delle ossa (**osseina**) si ottiene allo stesso modo; ma bisogna prima trattare le ossa con H Cl diluito per allontanare i sali, e poi allontanare l'acido mediante ripetuti lavaggi.

È una sostanza insolubile in acqua, in soluzioni saline neutre, in acidi e alcali diluiti; solo si rigonfia in acidi diluiti. Per l'azione di acidi diluiti o dell'acqua bollenti, il collageno viene sciolto e nello stesso tempo trasformato in **gelatina** (o **colla, glutine animale**), che è un prodotto d'idratazione del collageno. Col riscaldamento forte (a 130° C) e prolungato, la gelatina perde novamente acqua, secondo la seguente formola (HALLIBURTON):

$$\underbrace{C^{102}\ H^{151}\ N^{31}\ O^{29}}_{\text{(gelatina)}} - H^2\ O = \underbrace{C^{102}\ H^{149}\ N^{31}\ O^{28}}_{\text{(collageno)}}$$

tornando collagene; così che essa non è che un idrato del collagene.

La gelatina, secondo alcuni, non contiene S; secondo SCHUTZENBERGER, che ne dà la seguente formola: $C^{76}\ H^{124}\ N^{24}\ O^{29}$, lo S trovato deriva da impurità proteiche; secondo HAMMARSTEN, ne contiene circa 0,6 %, e non è dovuto ad impurità. Certo è che lo S del collageno o della gelatina è tutto stabilmente combinato, così che si osserva uno sviluppo di $H^2\ S$ quando si tratta la sostanza con H Cl, ma nessuna colorazione bruna quando la si tratta con K O H e acetato di piombo.

Benchè i collageni dei diversi organi presentino delle differenze non trascurabili, diamo qui la composizione centesimale media del collageno, in generale, e della colla, come se essa fosse costante:

	C	H	N	S+O	
Collageno	50,75	6,47	17,86	24,92	(HOFMEISTER)
Colla	49,31	6,55	18,37	25,77	(MULDER)
Colla delle ossa . . .	50,0	6,5	17.5	26,0	(FREMY)
Gelatina purificata . .	50,14	6,69	18,12	—	(PAAL).

Il collageno è digerito dal succo pancreatico, se è stato prima trattato con un acido o è stato riscaldato in acqua sopra i 70° C. (KUEHNE ed EWALD).

Trattato con solfato di ferro, con sublimato o con acido tannico, si raggrinza fortemente e s'ispessisce; in tale stato non è più soggetto alla putrefazione. Tale trattamento è utilizzato nella fabbricazione delle pelli.

§ 71. La **gelatina** (**colla** o **glutine animale**) è una sostanza amorfa, incolore, trasparente. È insolubile in acqua e glicerina fredde, in alcool, etere, cloroformio, ecc.; solubile in acqua e in glicerina calde. Con la diminuzione del contenuto in ceneri, diminuisce nelle soluzioni di colla il potere di rapprendersi nel raffreddamento (NASSE, KRUEGER).

È bene sapere che anche le più pure gelatine del commercio contengono una quantità considerevole di ceneri, di sostanze proteiche in diversi stadi di peptonizzazione, di peptone di colla, ecc.: e che bollendo a lungo il collageno, una parte della colla che si forma subisce una modificazione tale che le impedisce di rapprendersi in gelatina nel raffreddamento. Questa colla che non gelatinizza fu chiamata da NASSE β-glutine, e ha un potere rotatorio minore $[(\alpha)\ D = +\ 136^0]$ della colla $[(\alpha)\ D = -167{,}5^0]$. Per liberare la gelatina dai sali e dai prodotti di scissione di essa (peptone di gelatina, gegelatosi, ecc.), è utile lavare a lungo la sostanza finemente spezzettata con H^2O, poi scioglierla a caldo, filtrarla, e lasciarla nuovamente raffreddare.

La gelatina non è precipitata dalle sue soluzioni dagli acidi minerali, dall'acido acetico, dall'allume, dall'acetato di piombo e dai sali metallici in generale, dal $HgCl^2$ solo (HOFMEISTER, PICKERING). È precipitata, dalle sue soluzioni acidificate con acido acetico, dall'aggiunta cauta di ferrocianuro potassico, un eccesso del quale la ridiscioglie; inoltre dal solfato di magnesio e d'ammonio, dal tannino, dal sublimato più HCl, dall'acido acetico più $NaCl$ in sostanza, dall'acido metafosforico, dall'acido fosfomolibdenico in presenza di poco acido minerale, dall'alcool specialmente in presenza di sali.

Le soluzioni di gelatina non diffondono, essendo dei liquidi colloidi. Dànno la reazione del biurete, non quella di ADAMKIEWICZ; la reazione di MILLON e xantoproteica, secondo alcuni, molto debolmente, tanto da far pensare ch'esse siano dovute ad impurità proteiche.

Secondo SALKOWSKI, la gelatina dà tinta giallastra con il reattivo di ADAMKIEWICZ, nessun colore col reattivo di MILLON, e un color giallo nella reazione xantoproteica. PICKERING però osservò una tipica reazione xantoproteica e una reazione di MILLON egualmente caratteristica con gelatina purissima e con un miscuglio di gelatinosi e di gelatinpeptone. Ottenne il medesimo resultato di SALKOWSKI nella reazione di ADAMKIEWICZ. Osservò inoltre che la gelatina allo stato solido si colora in blu intenso quando è trattata con acido mo-

libdenico e sol orico; mentre non dà la reazione di LIEBERMANN nè quella di SCHULTZE. Avendo PICKERING confermato che la cheratina pura dà tutte le reazioni caratteristiche delle sostanze proteiche, concluse che la gelatina differisce nelle sue reazioni dalle proteine più di qualunque altro albuminoide.

Bollendo a lungo la gelatina in H^2O, abbiamo visto che in parte si trasforma in una β-gelatina, che non si rapprende più a freddo (NASSE). Continuando ancora la cottura, specialmente in presenza di acidi minerali diluiti, o per l'azione del succo gastrico o pancreatico, si ottengono i corrispondenti gelatosi e i peptoni di gelatina, il cui peso molecolare, determinato da PAAL col metodo crioscopico di RAOULT, è 200-352, mentre quello della gelatina è eguale a 878-960. Ma di questi prodotti della digestione della gelatina ci occuperemo più diffusamente in seguito.

I prodotti di scomposizione del collageno sono gli stessi di quelli della gelatina. SCHUTZENBERGER riscaldò la gelatina in tubi chiusi con acqua di barite, a 200° C, e ottenne NH^3, CO^2 e acido ossalico nella stessa proporzione in cui si ottengono nella scomposizione dell'urea; ottenne inoltre amido-acidi della serie acetica: glicocolla, alanina, acido amidobutirrico, leucina, acido aspartico e glutammico. Da ciò trasse la conclusione che la gelatina, come le proteine, risulta principalmente dalla combinazione dell'urea con determinati amidoacidi (ved. sopra: SOSTANZE PROTEICHE).

Abbiamo già accennato che la gelatina non dà, come prodotto di scomposizione, della tirosina: dà invece molta glicocolla, e inoltre lisina e lisatinina. Nella putrefazione non dà, contrariamente alle proteine, nè tirosina, nè indolo o scatolo. Ciò non ostante, secondo MALY, il gruppo aromatico non farebbe difetto alla colla, la quale si comporta, secondo lui, come una proteina ossidata — vale a dire come il suo acido ossiprotosulfonico —, perchè dà, scomponendosi, dell'acido benzoico, quando è ossidata con permanganato potassico e successivamente la sostanza è fusa con KOH. La mancanza di alcune reazioni colorate (ved. sopra) troverebbe così, secondo i più, la sua ragione nella mancanza del nucleo aromatico.

Per preparare una gelatina abbastanza pura si bollisce il collageno (ottenuto nel modo sopra indicato) in acqua. Si lascia raffreddare il liquido, si taglia in piccoli pezzi la gelatina rappresa, la si lava ripetutamente in acqua fredda, quindi la si ridiscioglie in acqua calda e la si precipita con alcool.

Secondo KRUKENBERG, si lascia macerare per lungo tempo del tessuto connettivo in soluzione 5-10 % di NaOH, alla temperatura dell'ambiente, per cui tutte le proteine si sciolgono. Si lava poi abbondantemente il collageno rimasto, e lo si cuoce in acqua, per convertirlo in gelatina.

La gelatina così preparata non dà la reazione di MILLON, nè quella di ADAMKIEWICZ, nè quella con l'HCl.

Dalle reazioni di precipitazione della gelatina risulta che una delle cose più difficili nella pratica è il liberare dalla gelatina un liquido contenente anche sostanze proteiche coagulabili, senza alterare queste ultime. Negli estratti acquosi degli organi, sempre più o meno ricchi di collageno, questo naturalmente non passa, essendo insolubile. Ma vi passa, in forma di colla, quando il tessuto o l'organo è bollito insieme col liquido con cui si fa l'estrazione.

In tal caso, col raffreddamento, la gelatina si rapprende, ma sia che si trovi in piccolissima quantità, sia che una cottura prolungata dell'organo abbia trasformato la colla in β-gelatina, riesce poi difficile sbarazzarne l'estratto.

Se questo contiene anche nucleoalbumine, che non coagulano al calore, le difficoltà di separarle dalle tracce di colla diventano anche maggiori, poichè anche digerendo il liquido con succo gastrico le nucleoalbumine, almeno in parte, si disciolgono.

La gelatina che si ottiene bollendo delle cartilagini in acqua, prima detta **condrina**, non può esser considerata come una gelatina pura, essendo un miscuglio di gelatina e di combinazioni, specialmente alcaline, dell'acido condroitinsolforico solubili in acqua. Per questa ragione, della condrina abbiamo parlato altrove. Se si tratta della cartilagine ordinaria macerata con HCl diluito, allo scopo di eliminare i sali, e la si digerisce per settimane con KOH diluita, si giunge ad allontanare tutto l'acido condroitinsolforico dalla cartilagine; in modo che, lavandola ora per liberarla dalla KOH, si ha puro **collageno di cartilagine,** che bollito in acqua dà la vera **gelatina di cartilagine,** la quale non differisce in nulla di essenziale dalla gelatina di ossa o di tessuto connettivo comune. Se, per contro, si aggiunge del condroitinsolfato di sodio o di potassio a una soluzione di gelatina ordinaria, si ottiene un liquido che si comporta come una soluzione di condrina.

§ 72. La **reticolina** è una speciale sostanza albuminoide esistente nel tessuto di sostegno dei gangli linfatici, della milza, della mucosa intestinale, del fegato, dei reni e dei polmoni. Fu scoperta da SIEGFRIED, ed ha la seguente composizione centesimale:

$$C_{52,88},\ H_{6,97},\ N_{15,63},\ S_{1,88},\ P_{0,34},\ \text{Ceneri}_{2,27}.$$

Il P sarebbe legato in combinazione organica. Nella sua scomposizione non dà tirosina, ma H^2S, NH^3, lisina, lisatinina e acido amidovalerianico. Mediante l'ebollizione prolungata in acqua, più facilmente in alcali diluiti, si scioglie, dando una sostanza precipitabile dall'acido acetico, mentre si distacca il P.

La reticolina è insolubile in acqua, alcool, etere, acqua di calce, carbonato sodico e acidi minerali diluiti. È anche insolubile nel succo gastrico e pancreatico. Dà la reazione xantoproteica, del biurete e di ADAMKIEWICZ, non quella di MILLON.

Per **preparare la reticolina,** secondo SIEGFRIED, si digerisce la mucosa intestinale in soluzione alcalina di tripsina. Si lava poi il

residuo, lo si estrae in etere, lo si digerisce di nuovo con tripsina e lo si tratta ancora con alcool ed etere. Bollendo la sostanza cautamente in acqua, si elimina il collagene, il quale si trova o come impurità o combinato con la reticolina. Il residuo così ottenuto è reticolina pura.

§ 73. L'**elastina** è la sostanza che costituisce la parte fondamentale delle formazioni elastiche (fibrille, membrane, reticoli elastici, ecc.). Essa si trova in gran quantità nel legamento cervicale dei quadrupedi, nei legamenti gialli intervertebrali, nel tessuto connettivo ipodermico, nelle aponevrosi, nella tonaca media delle arterie; e sembra che le membrane d'inviluppo delle uova dei rettili siano fatte d'elastina. La gran diffusione del tessuto elastico fibrillare nell'organismo (LIVINI) e le differenze riscontrate nell'elastina preparata da vari organi e a diverse età d'uno stesso animale, stanno a dimostrare l'importanza fisiologica di questo albuminoide.

Pura e secca si presenta come una polvere giallo-biancastra, insolubile in acqua, in alcool e in etere, in NH^3, nel liquore cuproammoniacale, in soluzioni alcaline forti a freddo. Solo in alcali forti e con prolungata ebollizione finisce per sciogliersi. Dall'H^2SO^4 concentrato e freddo è attaccata solo lentamente; dall'HCl e HNO^3 caldi è sciolta relativamente presto. Dà le reazioni xantoproteica e di MILLON. Se si scioglie l'elastina in HCl concentrato, si ottiene, come quando si trattano allo stesso modo le proteine, un liquido colorato in violetto, mentre la reazione di ADAMKIEVICZ non si presenta molto evidente. I prodotti di scissione solubili dell'elastina dànno la reazione del biurete e xantoproteica.

Fu creduto per lungo tempo che l'elastina fosse priva di S; ma ormai è accertato (SCHWARZ) che essa ne contiene, benchè vi si trovi tutto labilmente combinato, come dimostra il fatto ch'esso si stacca facilmente, quando si tratta la sostanza con alcali. Per ottenere un'elastina contenente S, bisogna per ciò prepararla e purificarla mediante il trattamento con acido acetico forte, evitando il contatto degli alcali anche diluiti.

La sua composizione centesimale è:

	C	H	N	S	O	
Elastina del ligamentum nuchae.	54,32	6,99	16,75	—	21,94	(HORBACZEWSKI)
Id.	54,24	7,27	14,7	—	21,79	(CHITTENDEN ed HART)
Elastina dell'aorta.	53,95	7,03	16,67	0,38	—	(SCHWARZ)
Membrana delle uova dei serpenti . .	54,68	7,26	16,37	—	—	(HILGER).

L'elastina, bollita anche a lungo nell'acqua, non dà un isomero solubile a caldo analogo alla gelatina; tuttavia si scioglie, ma assai lentamente, sotto l'influenza dei succhi digerenti.

Preparazione dell'elastina — 1. **Metodo di** Horbaczewski. — Per preparare l'elastina, si fa bollire e poi si raschia il legamento cervicale del bue, lo si divide in fettoline sottili, che si fanno digerire prima in alcool caldo, poi bollire a lungo e successivamente in acqua, in KOH 1 %, in acido acetico 10 %. Quindi si lascia digerire la sostanza in HCl 5 % freddo, la si fa bollire di nuovo in acqua e la si estrae finalmente con alcool a 95° e con etere. Si ottiene così una materia giallastra, che però è priva di S, evidentemente in conseguenza della cottura con KOH.

2. **Metodo di** Schwarz. — Secondo Schwarz, invece, si sottopone da prima il tessuto a una digestione peptica incompleta, si lava con soluzione debole di Na^2CO^3, poi con acqua, e si bollisce da ultimo con acqua finchè esso si disgreghi. La sostanza disseccata e polverizzata viene novamente digerita in succo gastrico, lavata come sopra, e finalmente bollita in acqua tanto a lungo, finchè la sostanza simile a reticolina che vi si trova mescolata siasi completamente allontanata.

I prodotti di scomposizione dell'elastina sono quasi identici a quelli delle proteine, con la sola differenza che si ottiene glicocolla, ma non acido aspartico e glutammico. Essa dà poca tirosina, lisatinina e non sicuramente lisina. Nella putrefazione, non dà indolo o fenolo nè tirosina, ma acido butirrico e valerico, glicocolla, leucina; fusa con KOH dà indolo, scatolo, benzolo e fenoli, ma non metilmercaptano (Schwarz). Dei prodotti di digestione dell'elastina tratteremo in un prossimo paragrafo.

Horbaczewi ha mostrato che si può sdoppiare l'elastina, facendola bollire con un miscuglio di HCl, d'acqua e di cloruro stannoso; in tale miscuglio, anzi, a lungo andare si scioglie completamente; senza dar luogo a formazione di acidi grassi. Nel liquido, privato del sale di Sn, si trovano allora della glicocolla, della butalanina, molto leucina, delle leuceine e pochissima tirosina.

§ 74. La **cheratina** forma la sostanza fondamentale delle cellule superficiali dell'epidermide, delle unghie, delle corna, dello scudo e delle scaglie dei rettili, dei capelli e peli, delle penne, della membrana testacea dell'ovo, ecc.

Le cheratine di diversa origine hanno differente composizione chimica centesimale, come resulta dalla seguente tabella.

Tabella trentaquattresima.

Cheratina di	C	H	N	S	O	Autori
Capelli umani .	50,65	6,36	17,14	5,0	20,85	v. Laar
Idem. .	49,45	6,52	16,81	4,02	23,20	Kuehne e Chittenden
Unghie . . .	51,0	6,94	17,51	2,8	21,85	Mulder
Formazioni nervose	56,11-58,45	7,26-8,02	11.46-14,32	1,63-2,24	—	Kuehne
Corno (media) .	50,86	6,94	—	3,3	—	Horbaczewski
Scudo di tartaruga	54,89	6,56	16,77	2,22	19,56	Mulder
Membrana testacea dell'ovo	49,78	6,94	16.43	4.25	22,9	Lindvall
Barbe di penne	51.8	7,1	17,6	—	—	Scherer
Epidermide della pianta del piede	51.0	6.8	17,2	0,74	—	Scherer
Corno di vacca	51,0	6.8	16.6	5,0	—	Schlossberger

Gli elementi più variabili sono lo S e l'O. Lo S vi si trova in gran quantità ed è, almeno in parte, labilmente combinato, potendosi separarlo mediante il trattamento della sostanza con alcali o anche con acqua bollente. I peli rossi ne contengono fino a 8,3 %, mentre la lana bianca non ne contiene che 0,87 %.

Dalla stessa tabella risulta come la cheratina è relativamente una sostanza in generale molto ricca in N, e poco ricca in O, tanto che si pensò una certa quantità di S avesse sostituito nella molecola di cheratina una parte di O. Essa contiene poi circa 1,5 % di ceneri, formate da fosfati terrosi, solfati e, per i capelli e le penne, anche da ferro e silice.

Rammentiamo finalmente che nelle formazioni cornee assai frequentemente si trovano in considerevole quantità dei pigmenti di diversa natura; ma di questi tratteremo in seguito.

La **cheratina** è una sostanza amorfa, di consistenza cornea, in sottili strati anche trasparente. Bruciata, si decompone, emanandone un odore caratteristico di corno bruciato. È insolubile in acqua, alcool, etere, succo gastrico e pancreatico; si scioglie in acqua a 150°-200° C., ma col raffreddamento non si gelatinizza, ed è precipitata da tale soluzione dall'acido acetico, che sviluppa dell'H^2S, e dall'acido acetico più ferrocianuro potassico, che produce un precipitato solubile in un eccesso di acido. La cheratina si scioglie anche, ma lentamente, in lissive di KOH e di NaOH, specialmente a caldo, formandosi solfuri alcalini accanto a cheratosi e peptoni (?).

La cheratina dà le reazioni xantoproteica e di Millon, quest'ultima non in modo tipico. Bollita con acidi, dà leucina e molta tirosina (1-5 %), acido aspartico e glutammico, NH^3 e H^2S, un po' di

lisina e relativamente molta lisatinina, oltre una sostanza solforata, la cui combinazione con HCl ha la composizione

$$C^{14} H^{38} N^4 O^{12} S Cl^4 \text{ (Hedin).}$$

La cheratina dà dunque gli stessi prodotti di scomposizione che dànno le proteine. Gli alcali caustici agiscono sulla cheratina allo stesso modo degli acidi, ma i carbonati alcalini anche bollenti l'attaccano difficilmente e molto lentamente.

Quali sostanze intermedie fra le proteine vere e le cheratine, che da quelle derivano per lente trasformazioni chimiche aventi luogo in seno al citoplasma delle cellule epiteliali, possono considerarsi: l'**albumoide**, trovato da Moerner nelle cartilagini tracheali, ecc., cui abbiamo accennato sopra, e una sostanza simile alla cheratina esistente nello strato corneo dello stomaco muscolare degli uccelli.

Non sapremmo dire se la sostanza descritta da Ranvier col nome di **eleidina**, che si troverebbe in forma di granulazioni nello strato granuloso e nello strato lucido dell'epidermide, e che, secondo quell'A., precederebbe la formazione della cheratina, possa essere considerata come una sostanza chimica speciale.

Preparazione della cheratina. — Per preparare della cheratina pura si raschia o si trita un corno, poi si fa successivamente bollire la sostanza in soluzione 10 % di $Na^2 CO^3$, in acqua acidulata, in alcool ed etere. Si eliminano così parti di sostanze minerali, di grassi e di S. Si sottomette poi la sostanza all'azione del succo gastrico o del succo pancreatico, i quali sciolgono le sostanze proteiche che eventualmente vi si trovino; la si tratta con soluzione 2 % di $Na^2 CO^3$ per eliminare le nucleine messe in libertà dalla digestione peptica, e di nuovo con alcool ed etere, per allontanare le ultime tracce di grassi. Il residuo che così si ottiene è fatto di cheratina sufficientemente pura, cui però manca una certa quantità di S.

§ 75. Le **scheletine** (Krukenberg) sono sostanze che costituiscono, nelle varie classi degli invertebrati, la parte principale delle formazioni di sostegno o di ricoprimento.

In questo gruppo di sostanze furono messe: la **chitina**, la **jalina**, la **tunicina**, la **fibroina**, la **sericina**, la **spongina**, la **conchiolina**, la **corneina**, ecc. Ma abbiamo visto che la **chitina**, la **jalina** e la **tunicina** non sono degli albuminoidi, anzi non possono considerarsi come sostanze proteiche; esse possono piuttosto essere noverate fra gli idrati di carbonio complessi.

La **fibroina** è la sostanza principale che entra nella costituzione della seta cruda. Per prepararla si fa digerire la seta grezza per 24 ore in lissiva di Na OH fredda 5 %, poi la si lava con acqua, e quindi la si immerge in HCl 5 %; dopo un nuovo lavaggio si estrae la sostanza con alcool ed etere. Sbarazzata così dalle altre sostanze

proteiche, dai grassi, dalle resine e altre sostanze azotate, la fibroina che rimane rappresenta circa il 50 % del peso della seta adoperata.

La fibroina è una sostanza fibrosa bianca, setacea, meno resistente della seta, che brucia dando odore di corno bruciato. È insolubile nei sali neutri, nell'NH^3, negli alcali e negli acidi diluiti, ma si scioglie negli acidi forti e negli alcali assai concentrati.

Bollita a lungo in acidi mediocremente diluiti, dà leucina, glicocolla, alanina, tirosina (circa 5-8 %), ma non acido aspartico nè glutammico. Trattata con acqua di barite, dà tirosina, alanina, glicocolla, ecc. Si scioglie nelle soluzioni cupro- e zincoammoniacali, donde è precipitata dagli acidi deboli, e anche in soluzioni di cloruro di zinco basico.

Non contiene S. Calcinata, lascia circa 0,3 % di ceneri composte da fosfati, cloruri e solfati terrosi, insieme con un po' di ferro e di alluminio. Dà la reazione violetta con HCl concentrato bollente, la reazione di ADAMKIEWICZ. I prodotti di scomposizione della fibroina dànno la reazione del biurete.

Trattando la seta coi vapori d'acqua ad alta tensione, essa si scioglie, dando un liquido che si gelatinizza a freddo. Se si aggiunge a questo liquido dell'acetato basico di piombo, si ottiene un abbondante precipitato; se poi si allontana da questo il metallo mediante l'H^2S e l'aggiunta d'un po' d'alcool per favorire il deporsi del solfuro di piombo, si filtra e si tratta il liquido con molto alcool, si ottiene un precipitato, che è fatto di **sericina** o colla di seta. Questa si presenta in forma di fiocchi bianchi, che si sciolgono nell'acqua bollente e si gelatinizzano col raffreddamento. Dalle sue soluzioni è precipitata dal tannino, dall'alcool, dall'acetato basico di piombo e dalla massima parte dei sali dei metalli pesanti, e i precipitati si ridisciolgono in un eccesso del reattivo. Scaldata anche per 20 ore in acqua alla temperatura di 200° C., si scioglie solo in piccolissima parte, e questa presenta i caratteri dei peptoni.

Col detto trattamento, dunque, la sericina, che rappresenta come una **colla di seta**, analoga alla gelatina derivante dal collagene, viene estratta, mentre la fibroina, molto meno solubile, rimane nei fili primitivi. La fibroina, trattata con HCl concentrato freddo, si scioglie, perdendo l'1 % di N in forma di NH^3, e passa in una sostanza diversa, ma affine, detta **sericoina**, che può essere precipitata in forma di polvere bianca, versando la soluzione acida di fibroina in molto alcool. La sericoina dà, come la fibroina, la reazione di MILLON. Scomposta con acidi minerali bollenti, dà tirosina, glicocolla, ma non leucina; invece di questa dà alanina o acido amidopropionico.

La sericina, scomponendosi sotto l'azione dell'H^2SO^4 bollente, non dà glicocolla, ma leucina, tirosina e **serina**, che probabilmente è un acido α-amidoetilenlattico cristallizzabile e solubile in acqua, avente la seguente formola: $CH^2.OH - CH(NH^2) - CO.OH$.

La **spongina** è la sostanza organica fondamentale delle spugne. Fu creduta identica alla fibroina, ma STAEDELER dimostrò che, sdoppiandosi sotto l'influenza degli acidi minerali bollenti, dà leucina e glicocolla, ma non tirosina; onde sembra essere priva, come il collagene, del gruppo aromatico. Essa ne differisce anche per la sua insolubilità nel liquido cupro-ammoniacale. Nell'incinerazione lascia molta silice ed joduri alcalini.

Trattata con acqua di barite (SCHUTZENBERGER), verso la quale si mostra molto più resistente del collageno, dà:

Azoto ammoniacale	4,21 %
Acido carbonico	3,90 »
» ossalico	5,54 »
» acetico	3,64 »
Residuo fisso	96,00 »

L'analisi di questo residuo fisso mostra che esso è composto di leucina, butalanina e di tracce di tirosina, di glicalanina ($C^5 H^{12} N^2 O^4$) e d'un acido idroproteico (ZALACOSTAS) avente la formola

$$C^9 H^{18} N^2 O^5.$$

Non dà colla, ma sostanze della specie del gelatinpeptone, che dànno la reazione del biurete e xantoproteica, ma non quella di MILLON.

La **conchiolina** si trova nelle valve delle conchiglie e nei gusci delle chiocciole, come anche nelle membrane delle uova degli stessi animali. Scomponendosi, dà leucina e un corpo cristallino sconosciuto, ma non tirosina. È una sostanza anche più della spongina resistente alla Na OH forte. Anche in KOH satura bollente si scioglie lentamente. Invece si scioglie presto e da ultimo si decompone intieramente in acidi minerali diluiti bollenti. Scaldata per sei ore in acqua a 170° C., fornisce poca sostanza solubile avente i caratteri di gelatinpeptone.

La conchiolina, come la spongina, non dà la reazione di MILLON: entrambe vanno messe, per ciò, nel gruppo del collagene.

La **corneina** forma la sostanza fondamentale organica dei coralli. Sciolta in acqua soprariscaldata o in soluzione bollente di Na OH, dà sostanze aventi caratteri di peptoni. L'acido solforico diluito bollente la scioglie e scompone, con formazione di leucina e di una sostanza cristallizzante in piastrine, appartenente forse alla serie aromatica e detta **cornicristallina**. La corneina dà la reazione di MILLON e sviluppa una considerevole quantità di indolo, quando è fusa con KOH.

L'**elastoidina**, descritta da KRUKENBERG nel *Mustelus*, presenta quasi tutte le proprietà dell'elastina, benchè ne differisca nella sua composizione elementare.

Il **bisso** contiene anche una sostanza difficilmente solubile, simile alla conchiolina.

Nella seguente tabella si vede la composizione centesimale delle sostanze dianzi descritte.

Tabella trentacinquesima.

Sostanze	C	H	N	S	O	Autori
Conchiolina (dalle uova di lumache)	50,92	6,88	17,86	0,31	24,34	KRUKENBERG.
Spongina . . .	46,50	6,30	16,20	0,5	27,50	CROOCKEWITT.
Idem. . . .	48,75	6,35	16,40	—	—	POSSELT.
Corneina . . .	48,96	5,90	16,81	—	28,33	KRUKENBERG.
Fibroina. . . .	48,23	6,27	18,31	—	27,19	CRAMER.
Idem.	48,30	6,50	19,20	—	26,00	VIGNON.
Sericina	44,32	6,18	18,30	—	30,20	CRAMER.

Come si vede la composizione centesimale delle scheletine non è costante, poichè alcune si avvicinano più, a questo riguardo, alle proteine vere e all'elastina, altre piuttosto al collageno.

§ 76. L'**amiloide** di VIRCHOW è una sostanza azotata, che si forma nell'organismo umano in alcuni processi patologici.

Non è stata ancora ottenuta in forma affatto pura, ma si presenta come una sostanza biancastra, cerea, disposta a blocchi irregolarmente rotondeggianti, composti di strati concentrici, somiglianti ai grani d'amido. Secondo le analisi di FRIEDREICH e KEKULÉ, questa sostanza avrebbe la seguente composizione centesimale:

$$C_{53,6}\,;\ H_{7,0}\,;\ N_{15,0}\,;\ S + O_{24,4}.$$

Secondo KUEHNE e RUDNEFF conterrebbe 1,3 % di S. Ma non si è ben certi se la sostanza analizzata fosse priva di altre sostanze proteiche. È insolubile in acqua fredda e calda, alcool, etere, HCl e acido acetico diluiti. Dall'HCl concentrato e dagli alcali è disciolta e trasformata in acidalbumina o alcalialbumina. Dà la reazione xantoproteica di MILLON e di ADAMKIEWICZ; è colorata dallo I in rosso-bruno, dall'H^2SO^4 e dallo I in violetto sporco. dal violetto d'anilina in rosso, specialmente dopo l'aggiunta d'un po' d'acido acetico, e dal verde d'anilina in rosso.

Bollita a lungo in acidi diluiti, non dà glicosio o altra sostanza riducente, ma leucina e tirosina. Trattata con succo gastrico, si scioglie. Secondo KRAWKOW. bollita a lungo con KOH concentrata lascia un residuo simile a chitina.

Preparazione dell'amiloide. — Per preparare l'amiloide, si divide in piccolissimi pezzi l'organo (fegato, milza, ecc.) degenerato, si lava la polpa con acqua fredda, la si spreme e poi la si bollisce in acqua

a 120° C per sciogliere e gelatinizzare le sostanze collagene. Si filtra a caldo, e si estrae il residuo con alcool bollente per eliminare grassi e la colesterina; quindi lo si digerisce in succo gastrico artificiale (pepsina + H Cl 2 %). Il residuo, secondo GAUTIER, sarebbe costituito da amiloide, più una certa quantità di tessuto elastico, donde potrebbe essere liberato sciogliendolo in soluzione debole di NH^3 e riprecipitandolo con acido acetico. Ma il residuo contiene anche della nucleina; e poi si sa oramai (KOSTJURIN) che il succo gastrico scioglie anche l'amiloide. Per ciò questo metodo non è da adoperarsi allo scopo di preparare l'amiloide puro.

L'amiloide non ha alcuna affinità con gl'idrati di carbonio, e non ha nulla da fare con quella sostanza che si forma per l'azione dell'H^2SO^4 forte sul celluloso, e che i chimici dicono anche **amiloide** o **pergamena artificiale.**

L'amiloide non può ottenersi sciolto inalterato, perchè in acidi si trasforma in sintonina, e in alcali in alcalialbumina.

V. — Bibliografia delle sostanze proteiche.

(PRIMA PARTE).

(459) 1823. KODWEISS. *Ueber die Zusammensetzung der Harnsäure und die Zersetzungsproducte, welche durch ihre Zersetzung mit Salpetersäure erzeugt werden.* Poggendorff's Annalen, Bd. XIX, pag. 1-25.

(460) 1842. DUMAS e CAHOURS. (Fibrina). Ann. de Chim. et de Physique. (3e série), tom. IV, p. 385.

(461) 1846. RUELING. (Fibrina). Ann. Chem. und Pharm., Bd. LVIII, pag. 301.

(462) 1848. FLEITMANN. *Bestimmungen des Verhältnisses in welchen das Schwefel in seinen zwei verschiedenen Formen in den Schwefel- und Stickstoffhaltigen organischen Verbindungen enthalten ist.* Ann. Ch. u. Phar. Bd. LXVI, pag. 380.

(463) 1849. WIEDEMANN G. *Ueber ein neues Zersetzungsproduct des Harnstoffs.* Poggendorff's Annalen, Bd. LXXIV, p. 67-84.

(464) 1859. KEKULÉ A. e FRIEDREICH N. *Zur Amyloidfrage.* Virchow's Arch., Bd. XVI, p. 50-65.

(465) 1859. SCHMIDT. *Ueber d. sog. thier. Amyloid.* Ann. Ch. u. Phar., Bd. CX. p. 250.

(466) 1859. STAEDELER. *Unters. üb. Fibroin, Spongin u. Chitin nebst Bemerkungen üb. d. thier. Schleim.* Ann. Ch. u. Phar., Bd. CXI. p. 12.

(467) 1860. VOIT C. *Zur Physiologie der Perlmuschel.* Zeitschr. f. wiss. Zool., Bd. X.

(468) 1860. LUECKE A. *Die Hüllen der Echinococcen und die Echinococcen-Flüssigkeit.* Virchow's Arch., Bd. XIX, pag. 189-186.

(469) 1865. CRAMER E. *Ueber die Bestandtheile der Seide.* Journ. f. prakt. Chem. (A. F.), Bd. XCVI, p. 76-97.

(470) 1865. KUEHNE W. e RUDNEFF. *Zur Chemie der amyloiden Gewebsentartung.* Virchow's Arch., Bd. XXXIII, pag. 66-75.

(471) 1866. DYBKOWSKY W. *Ueber die Quantität des mit dem Hämoglobin lose gebundenen Sauerstoffes.* Hoppe-Seyler's med. chem. Unters., H. I, p. 117.
(472) 1869. KREUSLER W. *Asparaginsäure als Zersetzungsproduct thierischer Proteinstoffe, etc.* Journ. f. prakt. Chem. (A. F.), Bd. CVII, pagina 240-245.
(473) 1869. RITTHAUSEN H. *Asparaginsäure und Glutaminsäure, Zersetzungsproducte des Legumins und Conglutins etc.* Journ. f. prakt. Chem. (A. F.), Bd. CVII, pag. 218-240.
(474) 1871. HLASIWETZ e HABERMANN. *Ueber die Proteinstoffe.* Ann. Ch. u. Pharm., Bd. CLIX, pag. 304.
(475) 1871. PREYER W. *Monographie der Blutkrystalle.* Jena.
(476) 1871. LUBAVIN. Hoppe-Seyler's med.-chem. Unters., H. IV, p. 463.
(477) 1871. MIESCHER. Hoppe-Seyler's med.-chem. Unters., H. IV, p. 460.
(478) 1872. NASSE O. *Studien über die Eiweisskörper.* Pflüger's Arch., Bd. VI, pag. 589-615.
(479) 1872. RITTHAUSEN. *Die Eiweisskörper, etc.* Bonn.
(480) 1873. ARONSTEIN B. *Ueber die Darstellung salzfreier Albuminlösungen vermittelst der Diffusion.* Inaug.-Diss., Dorpat.
(481) 1873. HLASIWETZ e HABERMANN. *Ueber die Proteinstoffe.* Ann. Ch. u. Pharm. Bd. CLXIX, pag. 150.
(482) 1873. NASSE O. *Studien über de Eiweisskörper.* Pflüger's Arch., Bd. VII, pag. 139-154.
(483) 1873. HLASIWETZ H. e HABERMANN J. *Ueber die Proteinstoffe.* Journ. prakt. Chem. (2), Bd. VII, p. 397-412.
(484) 1874. NASSE O. *Studien über die Eiweisskörper.* III. Pflüger's Arch., Bd. VIII, p. 381-390.
(485) 1874. ARONSTEIN B. *Ueber die Darstellung salzfreier Albuminlösungen vermittelst der Diffusion.* Pflüger's Arch., Bd. VIII, p. 75-92.
(486) 1874. ADAMKIEWICZ A. *Farbenreactionen des Albumin.* Pflüger's Arch., Bd. IX, p. 156-162.
(487) 1874. RADZIEJEWSKI S. e SALKOWSKI E. *Bildung von Asparaginsäure bei der Pankreas-Verdauung.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. VII, p. 1050-1051.
(488) 1874. WORM-MUELLER J. *Zur Kenntniss der Nucleine.* Pflüger's Arch., Bd. VIII, p. 190-194.
(489) 1875. ADAMKIEWICZ A. *Eine neue Reaction für Albuminate und Peptone.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. VIII, p. 161-164.
(490) 1875. SCHUTZENBERGER M. P. *Recherches sur l'albumine et les matières albuminoïdes.* Bull. soc. chim. (N. S.), vol. XXIII, p. 161-173, 193, 216-229, 242-253, 385, 433, e vol. XXIV, p. 2-7, 145-160.
(491) 1875. KUEHNE W. *Ueber Indol aus Eiweiss.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. VIII, p. 206-210.
(492) 1875. NENCKI M. *Ueber die Bildung des Indols aus dem Eiweiss.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. VIII, p. 236-238.
(493) 1877. HAMMARSTEN O. *Zur Kenntniss des Kaseïns und der Wirkung des Labfermentes.* Upsala.
(494) 1877. GAETHGENS C. *Zur Kenntniss der Zersetzungsprodukte des Leims.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 299-316.
(495) 1877. EWALD A. e KUEHNE W. *Ueber einen neuen Bestandtheil des Nervensystems.* Verhandl. d. naturhist.-med. Vereins zu Heidelberg (N. F.), Bd. I, p. 357.
(496) 1877. SCHMIEDEBERG. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 205.
(497) 1877. WEYL TH. *Beiträge zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweisskörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 72-100.
(498) 1877. LUEBAVIN (Pseudonucleina della caseina del latte di mucca). Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. X, p. 2237-2240.
(499) 1877. HOPPE-SEYLER F. *Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffs.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 121-139.
(500) 1878. HUEFNER G. *Ueber die Quantität Sauerstoff, welche 1 gr. Hämoglo-*

bin zu binden vermag. Zeitschr. f. physiolog. Chem., Bd. I, pagine 317 e 386.
(501) 1878. MIESCHER F. *Die Spermatozoen einiger Wirbelthiere.* Verh. d. naturf. Gesellsch. Basel, Bd. III.
(502) 1878. WAELCHLI G. *Ueber die Fäulniss des Elastin und Mucin.* Journ. prakt. Chem., Bd. XVII (N. F.), p. 71-78.
(503) 1878. NENCKI M. *Ueber die Zersetzung des Eiweisses durch schmelzendes Kali.* Ibid., pag. 97-104.
(504) 1878. HAMMARSTEN O. *Ueber das Paraglobulin.* Zweiter Abschnitt. Pflüger's Arch., Bd. XVIII, p. 38-116.
(505) 1878-82. SCHAEFER E. A. *Notes on the temperature of heat-coagulation of certain of the proteid substances of the blood.* Journ. of. Physiol., vol. III, p. 181-187.
(506) 1879. LEDDERHOSE G. *Ueber Chitin und seine Spaltungsprodukte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 213-227.
(507) 1879. LUEBAVIN. (Pseudonucleina dalla caseina del latte di mucca). Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XII, p. 1021-1022.
(508) 1879. HAMMARSTEN O. *Ueber das Fibrinogen.* Erster Abschnitt. Pflüger's Arch., Bd. XIX, pag. 563-622.
(509) 1879. DRECHSEL E. *Ueber die Darstellung krystallisirter Eiweissverbindungen.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XIX, p. 331-335.
(510) 1879. HOFMEISTER FR. *Ueber ein Verfahren zur völligen Abscheidung des Eiweisses aus thierischen Flüssigkeiten.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II. p. 288-295.
(511) 1879-80. CHITTENDEN R. H. *On the formation of hypoxanthine from albumin.* Journ. of Physiol., vol. II, p. 28-37.
(512) 1879. SCHUETZENBERGER P. *Memoire sur les matières albuminoïdes.* Ann. de Chim. et Phys. (5), vol. XVI, p. 289-419.
(513) 1879. NENCKI M. e SCHAFFER F. *Ueber die chemische Zusammensetzung der Fäulnissbacterien.* Journal f. prakt. Chem., Bd. XX (N. F.), p. 443-466.
(514) 1879. HOFMEISTER FR. *Ueber die chemische Struktur des Collagens.* Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. II, p. 299-323.
(515) 1879. HOPPE-SEYLER F. *Weitere Mittheilungen über die Eigenschaften des Blutfarbstoffes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 149-155.
(516) 1879. KOSSEL A. *Ueber das Nukleïn der Hefe.* I. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 284-291.
(517) 1879. HORBACZEWSKI. Sitz.-ber. d. Wien. Akad., Bd. LXXX, p. 121.
(518) 1879. TARTARINOFF. Jahresber. d. Chem., p. 880.
(519) 1880. HAMMARSTEN O. *Ueber das Fibrinogen.* Zweiter Abschnitt. Pflüger's Arch., Bd. XXII, pag. 431-502.
(520) 1880. KOSSEL A. *Ueber das Nucleïn der Hefe.* II. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 290-295.
(521) 1880. HUEFNER F. *Ueber krystallinisches Hämoglobin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 382-383.
(522) 1880. JERNSTROEM. Maly's Jahresber., Bd. X, p. 34.
(523) 1880-81. SALOMON G. *Ueber die Bildung von Xanthinkörpern in keimenden Pflanzen.* Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin. Arch. f. Physiol., p. 166-167.
(524) 1881. KOSSEL A. *Untersuchung über die Nucleïne und ihre Spaltungsproducte.* Strassburg, Trübner.
(525) 1881. Id. *Ueber die Herkunft des Hypoxanthins in den Organismen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, p. 152-157.
(526) 1881. Id. *Ueber die Verbreitung des Hypoxanthins im Thier- und Pflanzenreich.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, p. 267-271.
(527) 1881. ROLLET. *Ueber die als Acidalbum. und Alkalialbum. bezeichnete Eiweissderivate.* Sitz.-ber. d. Wien. Akad., Bd. LXXXIV, Abth. III, p. 332.
(528) 1881. RITTHAUSEN H. *Krystallinische Eiweisskörper aus verschiedenen Oelsamen.* Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXIII (2), pag. 485-486.

(529) 1881. Id. *Ueber die Eiweisskörper der Oelsamen.* Ibid., Bd. XXIV, pagine 257-272.
(530) 1881. Landwehr H. A. *Untersuchungen über das Mucin der Galle und das der Submaxillardrüse.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, pagine 371-383.
(531) 1881. Gruebler G. *Ueber ein krystallinisches Eiweiss der Kürbissamen.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXIII, p. 97-137.
(532) 1881. Harnack E. *Untersuchungen über die Kupferverbindungen des Albumins.* Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. V, p. 198-210.
(533) 1881. Miescher. Arch. f. Anat. und Physiol., Anat. Abth., p. 193.
(534) 1882. Kossel A. *Ueber Xanthin und Hypoxanthin.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. VI, p. 422-431.
(535) 1882. Id. *Zur Chemie des Zellkerns.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 7-22.
(536) 1882. Erlenmeyer E. e Lipp A. *Ueber künstliche Tyrosin.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XV, p. 1544-1545.
(537) 1882. Schmiedeberg O. *Ueber die chemische Zusammensetzung der Wohnröhren von Onuphis tubicola.* Mitth. zool. Stat. z. Neapel, Bd. III, p. 373.
(538) 1882. Hammarsten O. *Zur Frage, ob das Casein ein einheitlicher Stoff sei.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 227-273.
(539) 1882. Id. *Metalbumin und Paralbumin. Ein Beitrag zur Chemie der Kystomflüssigkeiten.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 194-226.
(540) 1882. Horbaczewsky J. *Ueber das Verhalten des Elastins bei der Pepsinverdauung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 330-345.
(541) 1882. Ritthausen H. *Zusammensetzung der Eiweisskörper der Haufsamen und des krystallisirten Eiweisses aus Hanf- und Ricinussamen.* Journ. f. prakt. Chem., Bd. XXV, p. 130-141.
(542) 1882. Landwehr H. A. *Untersuchungen über das Mucin von Helix pomatia und ein neues Kohlenhydrat (Achrooglycogen) in der Weinbergschnecke.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 75-77.
(543) 1882. Hoppe-Seyler F. *Ueber das Methämoglobin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 166-174.
(544) 1882. Klinkenberg W. *Ueber die Nucleïne.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 566-571.
(545) 1882. Stutzer A. *Ueber das Vorkommen von Nucleïn in den Schimmelpilzen und in der Hefe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, pagine 572-574.
(546) 1883. Krukenberg F. *Ueber die Hyaline.* Würzburg.
(547) 1883. Kossel A. *Ueber Xanthin und Hypoxanthyn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 422-431.
(548) 1883. Weiske H. *Zur Chemie des Glutins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 460-465.
(549) 1883. Danilewsky A. *Zur vorläufigen Abwehr.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. VII, p. 427-449.
(550) 1883. Huefner G. e Kuelz R. *Ueber den Sauerstoffgehalt des Methämoglobins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 366-374.
(551) 1883. Giacosa P. *Études sur la composition chimique de l'oeuf et des ses enveloppes chez la grenouille commune. I. Sur l'enveloppe muqueuse de l'oeuf.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p, 40-56.
(552) 1883. Loew O. *Ueber Eiweiss und Pepton.* Pflüger's Arch., Bd. XXXI, p. 393-410.
(553) 1883. Hammarsten O. *Ueber den Faserstoff und seine Entstehung aus dem Fibrinogen.* Pflüger's Arch., Bd. XXX, pag. 437-483.
(554) 1883. Bruecke E. v. *Ueber das Alkophyr und über die wahre und die sogenannte Biuretreaction.* Monatshefte für Chemie, Bd. IV, pagine 203-222.
(555) 1883. Landwehr H. A. *Ueber Mucin, Metalbumin und Paralbumin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 114-121.
(556) 1883. Maly R. e Emich F. *Ueber das Verhalten der Gallensäuren zu*

Eiweiss und Peptonen etc. Monatshefte f. Chemie, Bd. IV, pagine 89-120.
(557) 1883. Otto J. *Ueber das Oxyhämoglobin des Schweines.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 57-64.
(558) 1883. Huefner G. e Otto J. *Ueber krystallinisches Methämoglobin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 65-70.
(559) 1883. Marshall J. *Bestimmung des Moleculargewichts vom Hundehämoglobin durch Verdrängung des Kohlenoxyds seiner Kohlenoxydsverbindung mittelst Stickoxyd.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 81-92.
(560) 1884. Harris V. D. *Haematin compounds.* Journ. of Physiol., vol. V, p. 209-212.
(561) 1884. Nencki M. e Sieber N. *Untersuchungen über den Blutfarbstoff.* Arch. f. exp. Path. und Pharm., Bd. XVIII, pag. 401-422.
(562) 1884. Nencki M. *Ueber das Eiweiss der Milzbrandbacillen.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XVII, pag. 2605-2609.
(563) 1884. Krukenberg W. *Ueber das Korneïn.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XVII, p. 1843.
(564) 1884. Hammarsten O. *Ueber die Anwendbarkeit des Magnesiumsulfates zur Trennung und quantitativen Bestimmung von Serumalbumin und Globulinen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 467-502.
(565) 1884. Loew O. *Ueber den mikrochemischen Nachweis von Eiweissstoffen.* Botan. Zeitung, No. 16.
(566) 1884. Huefner G. *Ueber das Oxyhämoglobin des Pferdes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 358-365.
(567) 1884. Id. *Ueber krystallinisches Methämoglobin vom Hunde.* Ibid., p. 366.
(568) 1884. Baginsky A. *Ueber das Vorkommen von Xanthin, Guanin und Hypoxanthin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 395-403.
(569) 1884. Kossel A. *Ueber Guanin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, pagine 404-410.
(570) 1885. Otto, Jak. G. *Die neueren Untersuchungen über das Hämoglobin und das Methämoglobin.* Biol. Centralbl., Bd. IV, p. 732-736.
(571) 1885. Tichomiroff A. *Chemische Studien über die Entwickelung der Insecteneier.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 518-532 e 566-567.
(572) 1885. Johanssohn. *Ueber das Verhalten des Serumalbumins zu Säuren und Neutralsalzen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 310-318.
(573) 1885. Schulze E. *Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 63-126.
(574) 1885. Id. *Ein Nachtrag zu den Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 253-259.
(575) 1885. Schulze E. e Bosshard E. *Zur Kenntniss des Vorkommens von Allantoin, Asparagin, Hypoxanthin und Guanin in den Pflanzen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 420-444.
(576) 1885. Salkowski E. *Zur Kenntniss der Eiweisskörper.* III. *Ueber Bildung der nicht hydroxylirten aromatischen Säuren.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 491-510.
(577) 1885. Krukenberg W. *Ueber das Konchiolin und über das Vorkommen des Chitins bei Cephalopoden.* Ber. deutsch. chem. Gesell., Bd. XVIII, p. 989.
(578) 1885. Id. *Grundzüge einer vergleich. Physiologie der thier. Gerüstsubstanzen.* Heidelberg.
(579) 1885. Id. *Ueber die chem. Beschaffenheit der sogenannten Hornfäden bei Mustelus, etc.* Mitt. zool. Stat. zu Neapel, Bd. VI, p. 286.
(580) 1885. Maly R. *Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mittelst Kaliumpermanganat.* I. Monatshefte f. Chem., Bd. VI, p. 107-156.
(581) 1885. Drechsel E. «*Eiweisskörper*». *in* Ladenburg's *Handwörterbuch der Chemie,* Bd. III, p. 534-539.

(582) 1885. Horbaczewski J. *Ueber die durch Einwirkung von Salzsäure aus den Albuminoïden entstehenden Zersetzungsprodukte.* Monatshefte f. Chem., Bd. VI, p. 639-650.
(583) 1885. Loew O. *Ueber Eiweiss und die Oxydation desselben.* Journ. prakt. Ch., Bd. XXXI, p. 129-153.
(584) 1885. Stutzer A. *Untersuchungen über die durch Magensaft unlöslich bleibenden stickstoffhaltigen Substanzen der Nahrungs- und Futtermittel.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 211-221.
(585) 1885. Zaleski S. *Ueber eine neue Reaction auf Kohlenoxydhämoglobin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 225-228.
(586) 1885. Frenzel J. e Weyl Th. *Ueber die Bestimmung des Kuh-Caseïns durch Fällung mit Schwefelsäure.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 246-252.
(587) 1885. Hammarsten O. *Ueber den Gehalt des Caseïns an Schwefel und über die Bestimmung des Schwefels in Proteïnsubstanzen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 273-309.
(588) 1886. Schuetzenberger P. *La constitution des matières protéiques.* Rev. scientif., 24 julliet, p. 97-108.
(589) 1886. Krukenberg C. Fr. W. *Weitere Mittheilungen über die Hyalogene.* Zeitschr. f. Biologie (N. F.), Bd. VI, p. 261-271.
(590) 1886. Id. *Forsegesetze Untersuchungen über die Skeletine.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. VI, p. 241-260.
(591) 1886. Zinnoffsky O. *Ueber die Grösse des Hämoglobinsmoleküls.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 16-34.
(592) 1886. Loebisch W. F. *Ueber Mucin aus der Sehne des Rindes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 40-79.
(593) 1886. Kossel A. *Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 248-264.
(594) 1886. Hoppe Seyler F. *Ueber Blutfarbstoffe und ihre Zersetzungsprodukte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 331-335.
(595) 1886. Nencki M. e Sieber N. *Ueber das Hämin.* Arch. f. esp. Path. u. Pharm., Bd. XX, p. 325-332.
(596) 1886. Nencki M. *Ueber das Parahämoglobin.* Ibid., p. 332-346.
(597) 1886. Schulze E. e Bosshard E. *Untersuchungen über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.* II.e Abh. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 134-145.
(598) 1886. Salkowski E. *Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss.* III. *Ueber die Bildung der nicht hydroxylirten aromatischen Säuren. Nachtrag.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 150-152.
(599) 1887. Nasse O. *Ueber das Aussalzen der Eiweisskörper und anderer colloider Substanzen.* Pflüger's Arch., Bd. XLI, p. 504-514.
(600) 1887. Liebermann L. Chem. Centralbl., p. 600.
(601) 1887. Id. *Wie hat man die bekannte Reaction auf Eiweiss mit Salzsäure anzustellen etc.* Centr. f. med. Wiss., N.° 18, p. 321-323.
(602) 1887. Id. *Kritische Betrachtung der Resultate einiger neuer Arbeiten über das Mucin.* Biol. Centralbl., Bd. VII, p. 54-64 e 94-96.
(603) 1887. Martin S. *Vegetable globulins.* Proc. of the physiol. Soc., Journ. of Physiol., vol. VIII, p. VIII-IX.
(604) 1887. Hammarsten O., *Ueber das Mucin der Submaxillardrüse.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 163-195.
(605) 1887, Bohr Chr. *Ueber die Verbindung des Hämoglobins mit Kohlensäure.* Beiträge zur Physiologie, C. Ludwig gewidmet. Leipzig. p. 170.
(606) 1888. Liebermann. *Ueber das Nucleïn der Hefe und künstliche Darstellung eines Nucleïns aus Eiweiss und Metaphosphorsäure.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXI, p. 598-600.
(607) 1888. Udranszky L. v. *Ueber Furfurolreaktionen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 395.
(608) 1888. Huppert e Zahor. *Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses im Harn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 484-495.

(609) 1888. SALKOWSKI E. *Ueber die Farbenreactionen des Eiweisses.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 215-221.
(610) 1888. MALY R. *Untersuchungen über die Oxydation des Eiweisses mit Kaliumpermanganat.* II. Monatshefte f. Chem , Bd. IX, p. 255-283.
(611) 1888. KOSSEL A. *Ueber das Adenin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 241-253.
(612) 1888. KRUEGER FR. *Ueber die ungleiche Resistenz des Blutfarbstoffs verschiedener Thiere gegend zersetzenden Agentien.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXIV, p. 318-335.
(613) 1888. WEYL TH. *Zur Kenntniss der Seide.* Ber. deutsch. chem. Gesell., Bd. XXI, p. 1407 e 1529.
(614) 1888. SOELDNER FR. *Die Salze der Milch und ihre Beziehungen zu dem Verhalten des Kaseïns.* In.-Diss., Erlangen.
(615) 1888. KRUKENBERG W. Chem. Untersuch. zur wiss. Med., H. II, p. 174.
(616) 1888. KRUEGER A. *Ueber den Schwefel der Eiweissstoffe.* Pflüger's Arch., Bd. XLIII, p. 244-264.
(617) 1888. LOEW O. e BOKORNY TH. *Die chemische Beschaffenheit des protoplasmatischen Eiweisses, nach dem gegenwärtigen Stand der Untersuchungen.* Biol. Centralbl., Bd. VIII, p. 1-8.
(618) 1888. PAIJKULL L. *Ueber die Schleimsubstanz der Galle.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 196-210.
(619) 1888. JAQUET A. *Elementaranalyse des Hundeblut-Hämoglobins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 285-288.
(620) 1889. CHITTENDEN R. H. e HART A. S. *Elastin und Elastosen.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. VII, p. 370.
(621) 1889. ALTMANN R. *Ueber Nucleïnsäuren.* Arch. f. Physiol., Suppl., p. 524-536.
(622) 1889. LIEBERMANN. *Ueber Nucleïn.* Centralbl. med. Wissensch., p. 210-225 e p. 497.
(623) 1889. CHRISTENSEN A. *Ueber eine neue Methode zur approximativen Bestimm. des Alb. im Urin.* Virchow's Arch., Bd. CXV, p. 128-145.
(624) 1889. OBERMAYER F. *Ueber die Anwendung der Trichloressigsäure in der physiologisch-chemischen Analyse.* Wien. med. Jahrbücher, p. 375.
(625) 1889. LIMBOURG PH. *Ueber Lösung und Fällung von Eiweisskörpern durch Salze.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 450-463.
(626) 1889. HARNACK E. *Ueber die Darstellung und die Eigenschaften aschefreien Albumins.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXII, p. 3046-3052.
(627) 1889. POHL J. *Bemerkungen über künstlich dargestellte Eiweissnukleïne.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 292-297.
(628) 1889. DRECHSEL E. *Zur Kenntniss der Spaltungsproducte des Caseïns.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXXIX, p. 425-429.
(629) 1889. WALTER. *Zur Affinitätsbestimmung organischer Basen.* Zeitschr. f. physikal. Chem., Bd. IV, p. 319.
(630) 1889. KOSSEL A. e THOISS G. *Ein Beitrag zur Kenntniss des Adenins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 395-398.
(631) 1889. SCHINDLER S. *Beiträge zur Kenntniss des Adenins, Guanins und ihre Derivate.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 432-442.
(632) 1889. NASSE O. *Ueber die Chemie des Glutins.* Biol. Centralbl., Bd. IX, p. 156-157.
(633) 1889. NENCKI M. e ROTSCHY A. *Zur Kenntniss des Hämatoporphyrins und des Bilirubins.* Monatshefte f. Chem., Bd. X, p. 568.
(634) 1889. KRUEGER M. *Die Bariumverbindungen des Glutins.* Biol. Centralbl., Bd. IX, 157-159.
(635) 1889. KOSSEL A. *Ueber das Theophyllin, einen neuen Bestandtheil des Thees.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 298-308.
(636) 1889. HOPPE-SEYLER F. *Beiträge zur Kenntniss der Eigenschaften der Blutfarbstoffe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIII, p. 477-496.
(637) 1889. MALY R. *Ueber die bei der Oxydation von Leim mit Kaliumpermanganat entstehenden Körper und über die Stellung von Leim zu Eiweiss.* Monatsh. f. Chem., Bd. X, p. 26.

(638) 1890. HARNACK E. *Ueber den Schwefelgehalt des aschefreien Albumins* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIII, p. 40-43.
(639) 1890. Idem. *Studien über das sogenannte aschefreie Albumin.* Ibidem. pag. 3745-3752.
(640) 1890. HOFMEISTER FR. *Ueber krystallisirten Seralbumin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 165.
(641) 1890. Id. *Ueber die Darstellung von krystallisirten Eieralbumin und die Krystallisirbarkeit colloider Stoffe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 165-172.
(642) 1890. LIEBERMANN L. *Nachweis der Metaphosphorsäure im Nuclein der Hefe.* Pflüger's Arch., Bd. XLVII, p. 155-159.
(643) 1890. JAQUET A. *Beiträge zur Kenntniss des Blutfarbstoffes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 289-296.
(644) 1890. ARAKI T. *Ueber den Blutfarbstoff und seine nähere Umwandlungsproducte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 405-415.
(645) 1890. COPEMAN S. M. *The crystallization of haemoglobin in man and the lower animals and of haemochromogen in man.* Journ. of Physiol., vol. XI, p. 401-409.
(646) 1890. DRECHSEL E. *Ueber die Bildung von Harnstoff aus Eiweiss.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIII, p. 3096-3102.
(647) 1890. SIEGFRIED M. *Ueber Hämoglobin.* Arch. f. Physiol., pag. 185.
(648) 1890. BOHR. *Ueber die Verbindung des Hämoglobins mit Kohlensäure sowie mit einer Mischung von Kohlensäure und Sauerstoff.* Centralbl. f. Physiol., Bd. IV, p. 253.
(649) 1890. Id. *Ueber die Verbindungen des Hämoglobins mit Sauerstoff.* Centralbl. f. Physiol., Bd. IV, pag. 249.
(650) 1890. Id. *Ueber die spezifische Sauerstoffmenge des Blutes und die Bedeutung derselben für den respiratorischen Stoffwechsel.* Ibid., pag. 254.
(651) 1890. Id. *Etudes sur les combin. du sang avec l'CO^2.* Extr. du Bullet. de l'Acad. royal. Danoice de Sc. et Lettr., 9 mai.
(652) 1890. Id. *Sur la teneur en O^2 des cristaux d'oxyhemoglobine.* Ibid.
(653) 1890. Id. *Sur les combinais. de l'hemoglobine avec l'oxygène.* Ibid., 9 mai.
(654) 1890. BERTHELOT. *La chaleur dégagée par l'action de l'oxygène sur le sang.* Comp. rend., 15 novembre 1889 (Biol. Centralbl., Bd. X, p. 318-320).
(655) 1890. BRUHNS G. *Ueber Adenin und Hypoxanthin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 533-575.
(656) 1890. KUEHNE W. e CHITTENDEN R. H. *Ueber das Neurokeratin.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.). Bd. VIII, p. 291.
(657) 1890. NEUMEISTER R. *Zur Physiologie der Eiweissresorption und zur Lehre von den Peptonen.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. IX, p. 309-373.
(658) 1890. ENGEL W. *Berichtigung und Ergänzung zur Untersuchung der Eischalen der Aplysia.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.), Bd. X, p. 345-352.
(659) 1890. Id. *Beiträge zur Kenntniss der organischen Grundsubstanz der Schalen von Reptilieneiern und Untersuchungen der Brustzellendeckel von Wespen und der Eihäute von Aplysia.* Zeitschr. f. Biol. (N. F.). Bd. IX, pag. 374-385.
(660) 1891. SABANEJEFF. *Kryoskopische Untersuchungen der Kolloïde.* Chem. Centralbl., p. 10.
(661) 1891. KRUEGER M. *Zur Kenntniss des Adenins.* I.e Mitth. Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV.
(662) 1891. SALOMON G. *Zur Kenntniss des Paraxanthins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 319-320.
(663) 1891. STOHMANN F. e LANGBEIN H. *Ueber den Wärmewerth der Nahrungsbestandtheile und deren Derivate.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XLIV, p. 336.
(664) 1891. Id. *Ueber den Wärmewerth der Nahrungsbestandtheile und deren Derivate.* Journ. f. prakt. Chem., Bd. XLIV, pag. 336-399.
(665) 1891. SABANEJEW e ALEXANDROW. MALY's Jahresber., Bd. XXI.

(666) 1891. Kossel A. *Ueber die chemische Zusammensetzung der Zelle.* Arch. f. Physiol., p. 182-186.
(667) 1891. Gabriel. *Ueber die Eiweisskrystalle von* Hofmeister. Zeitschr. phys. Ch., Bd. XV.
(668) 1891. Roesing E. *Untersuchungen über die Oxydation von Eiweiss in Gegenwart von Schwefel.* In.-Diss., Rostock.
669) 1891. Siegfried M. *Zur Kenntniss der Spaltungsproducte der Eiweisskörper.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIV, p. 418-432.
(670) 1891. Drechsel E. *Der Abbau der Eiweissstoffe.* Arch. f. Physiol., p. 248-278.
(671) 1891. Devoto L. *Ueber den Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 465-476.
(672) 1891. Hofmeister F. *Ueber die Zusammensetzung des krystallinischen Eieralbumins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 187-191.
(673) 1891. Hammarsten O. *Ueber das Vorkommen von Mucoïdsubstanzen in Ascitesflüssigkeiten.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 202-227.
(674) 1891. Walter G. *Zur Kenntniss des Ichthulins und seiner Spaltungsproducte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 477-494.
(675) 1891. Werigo Br. *Ueber das* Harnack'*sche aschenfreie Albumin.* Pflüger's Arch., Bd. XLVIII, p. 127-148.
(676) 1891. Liebermann L. *Studien über die chemischen Processe in der Magenschleimhaut.* Pflüger's Arch., Bd. L, p. 25-54.
(677) 1891. Id. *Notiz über das chemische Verhalten des Nierenparenchyms.* Ibid., p. 55-56.
(678) 1891. Brunton T. L. e Martin S. *The action of alcohols and aldehydes on proteid substances.* Journ. of Physiol., vol. XII, p. 1-4.
(679) 1891. Ringer S. e Sainsbury H. *The action of salts upon heat coagulation.* Journ. of Physiol., vol. XII, p. 170-183.
(680) 1891. Id., *The influence of calcium chloride on egg albumen and some of its derivates.* Journ. of. Physiol., vol. XII, p. 378-390.
(681) 1892. Halliburton W. D. *Proteids of Kidney and Liver cells.* Journ. of Phys., vol. XIII, p. 806.
(682) 1892. Bruhns G. e Kossel A. *Ueber Adenin und Hypoxanthin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 1-12.
(683) 1892. Lilienfeld L. e Monti A. *Ueber die mikrochemische Localisation des Phosphors.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 410-424.
(684) 1892. Lilienfeld L. *Ueber den flüssigen Zustand des Blutes und die Blutgerinnung.* Verh. d. Berl. physiol. Gesellsch., 22 Juli. Arch. f. Physiol., p. 550-556.
(685) 1892. Hedenius J. *Chemische Untersuchung der hornartigen Schicht des Muskelmagens der Vögel.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. III, p. 244-252.
(686) 1892. Harnack E. *Weitere Studien über das aschefreie Eieralbumin.* Ber. deut. chem. Ges., Bd. XXV, p. 204-209.
(687) 1892. Malfatti H. *Bemerkung zu meinem Aufsatze: « Beiträge zur Kenntniss der Nukleïne ».* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 8-9.
(688) 1892. Id. *Beiträge zur Kenntniss der Nukleïne.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 68-86.
(689) 1892. Bohr Chr. e Torup Soph. *Der Sauerstoffgehalt der Oxyhämoglobinkrystalle.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. III, p. 69-75.
(690) 1892. Bohr Chr. *Ueber die Verbindung des Hämoglobins mit Sauerstoff.* Ibid., p. 76-100.
(691) 1892. Id. *Beiträge zur Lehre von den Kohlensäureverbindungen des Blutes.* Skandin. Arch. f. Physiol. Bd. III, p. 47-68.
(692) 1892. Id. *Ueber den specifischen Sauerstoffgehalt des Blutes.* Ibid., p. 101-144.
(693) 1892. Ringer S. *Further observations on the influence of calcium salts in promoting heat coagulation of albumins.* Journ. of Physiol., vol. XIII, p. 300-308.

(694) 1892. HEWLETT R. T. *On fractional Heat-Coagulation.* Journ. of Physiol., vol. XIII, p. 493-512.
(695) 1893. HALLIBURTON W. D. *Chemical Physiology of the animal cell.* Brit. med. Journ., 11, 18 e 25 marzo.
(696) 1893. Id. *Proteids of Nervous tissues.* Journ. of Physiol., vol. XV, p. 90.
(697) 1893. SCHWARZ H. *Untersuchungen über die chemische Beschaffenheit der elastischen Substanz der Aorta.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XVIII, p. 487-507.
(698) 1893. INOKO Y. *Ueber die Verbreitung der Nucleinbasen in den thierischen Organen.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XVIII, p. 540-544.
(699) 1893. PICKERING J. W. *On certain proteid and albuminoid reactions and their significance.* Journ. of physiol., vol. XIV, p. 347-382.
(700) 1893. ARTHUS M. *Recherches sur quelques substances albuminoïdes. La classe des caséines; la famille des fibrines.* Th. de Paris.
(701) 1893. KOSSEL A. *Ueber die Nucleïnsäure.* Verhandl. physiol. Gesellsch. zu Berlin, 14 October 1892. Arch. f. Physiol., p. 157-164.
(702) 1893. WILLDENOW CL. *Zur Kenntniss der peptischen Verdauung des Caseins.* In.-Diss., Bern.
(703) 1893. LIEBERMANN L. *Neuere Untersuchungen über das Lecithalbumin.* Pflüger's Arch., Bd. LIV, p. 573-584.
(704) 1893. Id. *Studien über die chemischen Vorgänge bei der Harnsecretion.* Ibid., pag. 585-606.
(705) 1893. KRUEGER M. *Zur Kenntniss des Adenins und Hypoxanthins.* III.e *Mitth.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 423-458.
(706) 1893. Id. *Die Constitution des Adenins und Hypoxanthins* IV.e *Mitth.* Ibid. p. 459-472.
(707) 1893. LILIENFELD L. *Zur Chemie der Leucocyten.* Zeitschr. physiol. Chem.. Bd. XVIII, p. 473-486.
(708) 1893. MOERNER C. TH. *Ueber die im Hühnereiweiss in reichlicher Menge vorkommende Mucinsubstanz.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII. p. 525-532.
(709) 1893. WULFF C. *Beiträge zur Kenntniss der Nucleinbasen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 468-510.
(710) 1893. INOKO Y. *Einige Bemerkungen über phosphorhaltige Blutfarbstoffe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 57-59.
(711) 1893. HORBACZEWSKI J. *Ueber die Trennung der Harnsäure von den Xanthinbasen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 341-350.
(712) 1893. KRUEGER M. *Ueber die Fällbarkeit der Harnsäure und der Basen der Harnsäuregruppe als Kupferoxydulverbindungen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 351-357.
(713) 1894. DANILEWSKY. *Le protoplasma.* Rev. scientif., n. 19-20, 10-17 nov.
(714) 1894. BUELOW K. *Ueber aschefreies Eiweiss.* Pflüger's Arch., Bd. LVIII. pag. 207-221.
(715) 1894. HALLIBURTON W. D. e BRODIE T. GR. *Nucleo-albumin and intravascular coagulation.* Journ. of Physiol., vol. XVII, p. 135-173. Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XVIII, p. 57-59.
(716) 1894. GUMLICH. *Ueber die Aufnahme der Nucleïne in den thierischen Organismus.* Ibid., p. 508-512.
(717) 1894. MALERBA P. *Il solfo nella molecola delle sostanze proteiche.* Rendic. della R. Accad. di scienze fis. e mat. di Napoli, fasc. 3.º-5.º 5 maggio.
(718) 1894. HAMMARSTEN O. *Zur Kenntniss des Nucleoproteïde.* Ibid., Bd. XIX, p. 19-37.
(719) 1894. GUERBER A. *Krystallisation des Serumalbumins.* Sitzungs-ber. d. physik.-med. Gesellsch. zu Würzburg, pag. 143-146.
(720) 1894. NENCKI M. *Bemerkungen über die sogenannte Asche der Eiweisskörper.* Arch. exp. Path. und Pharm., Bd. XXXIV, p. 334-337.
(721) 1894. BONDZYNSKI ST. e ZOJA L. *Ueber die Oxydation der Eiweissstoffe mit Kaliumpermanganat.* Zeitschr. physiol. Chem.. Bd. XIX, pagine 225-238.

(722) 1894. Id. Id. *Ueber die fractionirte Krystallisation des Eieralbumins.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XIX, p. 1-18.
(723) 1894. MITTELBACH F. *Ueber die spec. Drehung des Fibrinogens.* Ibid., p. 289-298.
(724) 1894. HARNACK E. *Zur Frage des krystallisirten und aschefreien Albumins.* Ibid., p. 299-300.
(725) 1894-95. MENZIES J. A. *On methaemoglobin.* Journ. of Physiol., vol. XVII, p. 402-414.
(726) 1894-95. Id. *On the action of certain acids on blood pigmet.* Ibid., pagine 415-422.
(727) 1895. HALLIBURTON W. D. *Nucleo-proteids.* Journ. of physiol., vol. XVIII, p. 306-318.
(728) 1895. BOCK J. *Ueber eine durch das Licht hervorgerufene Veränderung des Methämoglobins.* Skandin. Arch. f. Phys., Bd., VI, p. 299-307.
(729) 1895. SUTER F. *Ueber die Bindung des Schwefels im Eiweiss.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XX, p. 564-582.
(730) 1895. DASTRE A. e FLORESCO N. *Digestion saline de la gélatine.* Arch. de physiol., ann. XXVII, p. 801.
(731) 1895. PANORMOFF A. *Einwirkung verdünnter Säuren auf Albumin.* Maly's Jahresber., Bd. XXV, pag. 8-10.
(732) 1895. KRUEGER M. e SALOMON G. *Die Constitution des Heteroxanthins und seine physiologischen Wirkungen.* Zeitschr. physiol. Ch.. Bd. XXI, p. 169-185.
(733) 1895. MICHEL A. *Zur Kenntniss der* GUERBER' *schen Serumalbuminkrystalle.* Verhandl. d. physik.-med. Geselsch. zu Würzburg, Bd. XXIX, n. 3.
(734) 1895. CLOETTA M. *Ueber die Darstellung und Zusammensetzung des salzsauren Hämins.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXVI. pagine 349-360.
(735) 1895. BONDZYNSKI ST. e ZOJA L. *Ricerche sulla cristallizzazione e sull'ossidazione delle sostanze albuminoidi.* Annali di chimica e di farmacologia. Vol. XXI-XXII, p. 62-69.
(736) 1895. DRECHSEL E. *Ueber die Reduction alkalischer Kupferlösungen durch Eiweisskörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXI, p. 68-70.
(737) 1895. MORACZEWSKI W. v. *Ueber das Verhalten des Caseins in ammoniakalischer Magnesiumchloridlösung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXI, p. 71-78.
(738) 1895. BAUMANN E. *Ueber die Schwefelartigen Derivate der Eiweisskörper und deren Beziehungen zu einander.* Zeitsch. physiol. Ch., Bd. XX, p. 582-585.
(739) 1895. LOHNSTEIN. TH. *Ueber die densimetrische Bestimmung des Eiweisses.* Pflüger's Arch., Bd. LIX, p. 479-507.
(740) 1895. Id. Id. Ibid., Bd. LX, p. 136 138.
(741) 1895. HEDIN S. G. *Ueber ein neues Spaltungsproduct der Hornsubstanz.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XX, p. 186-192.
(742) 1895. TSCHERMAK A. *Ueber die Stellung der amyloiden Substanz unter den Eiweisskörpern.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XX, p. 343-356.
(743) 1895. MOHR P. *Ueber den Schwefelgehalt verschiedener Keratinsubstanzen.* Ibid., p. 403-406.
(744) 1895. BONDZYNSKI ST. e GOTTLIEB R. *Ueber Metylxanthin, ein Stoffwechselproduct des Theobromin und Coffeïn.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm.- Bd. XXXVI, pag. 45-55.
(745) 1895. Id. *Ueber Xanthinkörper im Harn des Leukämikers.* Ibid., pag. 127-137.
(746) 1895. SCHWARZ L. *Ueber die Wirkungen der Kupferalbuminsäure.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXV, pag. 437-448.
(747) 1895. KRUEGER M. *Das Verhalten von Harnsäure, Adenin und Hypoxanthin zu Kupfersulfat und Natriumsulfit, resp. Natriumthiosulfat.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, p. 170-175.
(748) 1895. KRUEGER M. e WULFF C. *Ueber eine Methode zur quantit. Bestimmung der sog. Xanthinkörper im Harne.* Ibid., p. 176-185.
(749) 1895. MOERNER C. TH. *Einige Beobachtungen über die Verbreitung der Condroitinschwefelsäure.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX. p. 357-363.

750) 1895. SEBELIEN J. *Ueber das Verhalten des bei der Pepsindigestion des Caseïns abgespaltenen Pseudonucleïns.* Zeitschr. physiol. Ch. Bd. XX, p. 443-454.
751) 1895-96. JOLLES A. *Eine empfindliche Probe zum Nachweis von Albumin im Harne.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXI, p. 306-310.
752) 1896. KUESTER W. *Beiträge zur Kenntniss des Hämatins.* Tübingen, Pietzcker.
753) 1896. KOSSEL A. *Ueber die Bildung von Thymin aus Fischsperma.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXII, p. 188-190.
754) 1896. MILROY T. H. *Ueber die Eiweissverbind. der Nucleïnsäure und Thyminsäure und ihre Bezieh. zu den Nucleïnen und Paranucleïnen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXII, p. 305.
755) 1896. BLUM F. *Ueber eine neue Gruppe von Verbindungen der Eiweisskörper.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXII, p. 127-131.
756) 1896. KRAWKOW N. *Ueber die Kohlehydratgruppe im Eiweissmolecül.* Pflüger's Arch., Bd. LXV, pag. 281-298.
757) 1896. SIEGFRIED M. *Zur Kenntniss der Phosphorfleischsäure.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXI, p. 360-379.
758) 1896. BALKE e IDE. *Quantitative Bestimmung der Phosphorfleischsäure.* Ibid., p. 380-386.
759) 1896. HESS N. e SCHMOLL E. *Ueber die Beziehungen der Eiweiss- und Paranucleïnsubstanzen der Nahrung zur Alloxurkörperausscheidung im Harn.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXVII, pagine 243-252.
760) 1896. KOSSEL A. e NEUMANN A. *Ueber Nucleïnsäure und Thyminsäure.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXII, p. 74-81.
761) 1896. KRUEGER TH. R. *Ueber die Abspaltung von Kohlensäure aus Phosphorfleischsäure durch Hydrolyse.* Ibid., p. 95-102.
762) 1896. BIALOBRZESKI M. *Ueber die chemische Zusammensetzung des nach verschiedenen Methoden dargestellten Hämins und Hämatins.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIX, pag. 2842.
763) 1897. BURIAN R. e SCHUR H. *Ueber Nucleïnbildung im Säugethierorganismus.* Zeitschr. physiol. Ch. Bd. XXIII, p. 55-73.
764) 1897. MALERBA P. *Sul contegno del solfo proteico nell'organismo.* Rend. R. Accad. Scienze fis. e mat. di Napoli, fasc. 2.°, 13 febbraio.
765) 1897. SCHIFF H. *Ueber Polyaspartsäuren.* Bericht. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXX, pag. 2449-2459.
766) 1897. GRIESSMAYER V. *Die Proteide der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen sowie einiger Steinfrüchte.* Heidelberg, Winter.
767) 1897. SCHMIEDEBERG. *Ueber die Elementarformeln einiger Eiweisskörper und über die Zusammensetzung und die Natur der Melanine.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXIX, p. 1-84.
768) 1897. HORBACZEWSCKI F. *Ueber krystallisirtes Xanthin und Guanin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXIII, pag. 226-230.
769) 1897. ARNSTEIN R. *Ueber die Bestimmung der Xanthinbasen im Harn.* Ibid., pag. 417-430.
770) 1897. SUNDWICK E. E. *Xanthinstoffe aus Harnsäure.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXIII, p. 476-483.
771) 1897. HOFMEISTER FR. *Untersuchungen über die Proteïnstoffe.* I. *Ueber jodirtes Eieralbumin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXIV, H. 1.
772) 1897. VAN NAME WILLARD G. *The gelatin from white fibrous connective tissue.* Journ. of exp. med., vol. II, 1, pag. 127.
773) 1897. BANG J. *Ueber die Kohlenhydratgruppe in dem Leukonucleïn.* Deutsch. med. Woch., Bd. XXIII, n. 21, pag. 324.
774) 1897. NENCKI M. *Ueber die biologischen Beziehungen des Blatt- und des Blutfarbstoffes.* Ber. d. chem. Ges., Bd. XXIX, pag. 2877-2883.
775) 1897. STORCH C. *Die Spaltung des Caseïnogens der Kuhmilch durch Aussalzung.* Centr. f. Physiol., Bd. XI, n. 7, pag. 221-222.
776) 1897. WROBLEWSKI A. *Zur Classification der Proteïnstoffe.* Centr. f. Physiol., Bd. XI, n. 9, pag. 306-308.

(777) 1897. SCHULZE E. *Ueber die Zersetzung der Eiweissstoffe und über die Bildung des Asparagins und des Glutamins in Keimpflanzen.* Chem.-Zeit., Bd. XXI, p. 625-628.
(778) 1897. PANORMOFF A. A. *Ueber Eigenschaften ein der im Taubenei enthaltenen Albumine.* Chem. Centr., Bd. II (5.e F.), pag. 595.
(779) 1897. FRAMM F. *Untersuchungen über die specifische Drehung des β-Glutins.* Pflüger's Arch., Bd. LXVIII, pag. 144-167.
(780) 1897. GRUETZNER P. *Die Caseïnausfällung, ein einfaches Mittel um die Acidität von Säuren zu bestimmen.* Ibid., pag. 168-175.
(781) 1897. LIEBRECHT A. *Ueber Jodderivate von Eiweisskörpern. (Caseïn).* Ber. deutsch. chem. Gesell., Bd. XXX, pag. 1824-1826.
(782) 1897. HOPKINS, GOWLAND F. *Untersuchungen über die Einwirkung der Halogen auf Eiweiss.* Ibidem, pag. 1860-1863.
(783) 1897. FISCHER E. *Synthese des Theobromins.* Ibid., pag. 1839-1846.
(784) 1897. Id. *Synthese des Heteroxanthins und Paraxanthyns.* Ibid., pagine 2400-2415.
(785) 1897. Id. *Synthese des Hypoxanthins, Xanthins, Adenins und Guanins.* Ibid., pag. 2226-2254.
(786) 1897. Id. *Ueber die Constitution des Caffeïns, Xanthins, Hypoxanthins und verwandter Basen.* Ibid., pag. 549-559.
(787) 1897. Id. *Neue Synthese der Harnsäure, des Hydroxycaffeïns und des Aminodioxypurins.* Ibid., pag. 559-573.
788) 1897. KUESTER W. *Ueber Oxydationsprodukte des Hämatoporphyrins und die Zusammensetzung des nach verschiedenen Methoden dargestellten Hämins und Hämatins.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXIX, pag. 2842.

2. — *PRODOTTI DELLA DIGESTIONE DELLE SOSTANZE PROTEICHE.*

(PROTEOSI E PEPTONI).

§ 77. **Generalità.** — La saliva non esercita alcuna azione chimica sulle sostanze proteiche.

Le modificazioni principali che queste subiscono nell'attraversare il tubo digerente, da quando penetrano nello stomaco fino a quando in forma di feci sono espulse dal retto, sono operate quasi esclusivamente dal succo gastrico e dal succo pancreatico, e propriamente dall' HCl più la pepsina del primo, e dalla tripsina nel liquido alcalino del secondo. Il succo enterico e la bile, come vedremo da ultimo, esercitano un'azione chimica quasi esclusivamente per il contributo di carbonati alcalini che forniscono al contenuto intestinale: l'azione proteotilica del succo enterico ammessa da qualcuno è, per lo meno, molto dubbia e certamente affatto accessoria.

In generale, si può dire che la modificazione principale, che i vari gruppi di sostanze proteiche subiscono per opera dei succhi digerenti, consiste in una progressiva semplificazione, depolimerizzazione

elle loro molecole straordinariamente complesse, semplificazione che embra le renda più atte ad essere assorbite, in parte forse perchè trasforma in sostanze più diffusibili. Infatti la differenza principale he corre fra le sostanze proteiche originarie, quali sono introdotte ome alimenti ordinari, e i prodotti della loro digestione, più che di atura chimica è, per quanto finora ne sappiamo, di natura fisica. edremo che la massima parte di questi prodotti hanno approssimativamente la stessa composizione centesimale delle proteine, e ontengono gli stessi elementi costitutivi. Al più i proteidi si scinono, durante la digestione, nel nucleo prostetico e nel nucleo proeico.

Fisicamente, invece, i proteosi ed i peptoni sono corpi molto diffeenti da quelli dai quali derivano. Essi filtrano molto più agevolmente rapidamente, non sono coagulabili dal calore, sono precipitabili alle loro soluzioni acquose da un numero di sostanze molto minore, ono più diffusibili, hanno un attrito interno molto minore (Bottazzi), un potere specifico di rotazione sulla luce polarizzata differente, ecc. Questo fatto, delle modificazioni principalmente fisiche he tutte le sostanze alimentari organiche subiscono, quasi per prepararsi all'assorbimento, dovrebbe esser preso in maggior considerazione da quei fisiologi che negano l'esistenza e l'importanza dei enomeni fisici di filtrazione, di osmosi, ecc. nel meccanismo dell'assorbimento gastro-intestinale.

§ 78. **Prodotti della digestione gastrica delle proteine. Proteosi e Peptoni.** — I **proteosi** sono prodotti intermedi dello sdoppiamento idrolitico delle proteine: i prodotti terminali sono detti **peptoni.** Si producono nella digestione gastrica e pancreatica per l'azione degli enzimi proteolitici, e artificialmente mediante l'ebollizione prolungata con acqua o meglio con acidi minerali diluiti, mediante il vapor d'acqua ad alta tensione, mediante il trattamento con alcali forti e durante la putrefazione. I prodotti che si ottengono in questi vari trattamenti non sono però identici (Neumeister).

Queste sostanze sono precipitate dall'alcool, senza rimanerne denaturate o coagulate; dànno tutte la reazione del biurete; i proteosi dànno con acido acetico e ferrocianuro potassico e con acido nitrico un precipitato che si discioglie a caldo e ricompare a freddo; sono tutte attive sulla luce polarizzata (levogire).

Reazioni dei proteosi e peptoni. Reazioni colorate. — Le seguenti sono reazioni colorate caratteristiche dei proteosi e dei peptoni:

1. **Reazione del biurete.** — Se ad una soluzione di proteosi o peptoni si aggiunge KOH e **qualche goccia** di soluzione di $CuSO^4$ diluita, si osserva un color rosso-rosa (se si aggiunge NH^3, un color rosso-violetto). Tale reazione si fa per lo più in presenza di gran quantità di sali: intanto, se si tratta di $MgSO^4$, la KOH o la NaOH pro-

ducono un precipitato abbondante di $Mg(OH)^2$, che bisogna lasciar deporre, prima di giudicare della reazione colorata avvenuta nel liquido; il Na Cl non disturba la reazione; se si tratta finalmente di $(NH^4)^2 SO^4$, bisogna aggiungere un grande eccesso di KOH o di Na OH perchè la reazione avvenga. Verisimilmente questa reazione è data da un radicale cianico, perchè è comune a molte sostanze che questo radicale contengono: (biurete, acido cianurico, acido urico, xantina, ipoxantina, sarcosina, acido cianidrico).

2. **Reazione di** Gnezda. — NH^3 e solfato di nichelio non producono alcun colore con le albumine e globuline, dànno un color giallo con i proteosi e i peptoni. KOH o Na OH e solfato di nichelio dànno con le prime un color giallo, con i proteosi e i peptoni un color arancio. Queste reazioni sono comuni all'acido cianurico e cianidrico.

Reazioni di precipitazione ed altri caratteri fisici. — I proteosi sono precipitati da alcuni sali in soluzione satura, e specialmente dal solfato ammonico, dall'alcool, dal sublimato, dal tannino, dagli acidi picrico, fosfovolframico e fosfomolibdenico, ecc.

Quanto alla diffusibilità, si può dire che i proteosi stanno in mezzo fra le proteine e i peptoni. I proteosi, o separatamente o collettivamente, sono diffusibili con una certa rapidità, e la loro diffusibilità è modificata dalle condizioni in cui si fa l'esperimento. Così, un'elevazione della temperatura produce un notevole aumento della diffusione, nella proporzione di 3 ad 1 fra le temperature di 38° e 8° C. Chittenden e Amerman pensano che uno studio più ampio della diffusibilità dei proteosi e dei prodotti di idratazione resultanti dalla proteolisi delle sostanze proteiche, mostrerebbe che tutti questi corpi sono più o meno diffusibili, benchè forse differenti nel loro equivalente endosmotico individuale.

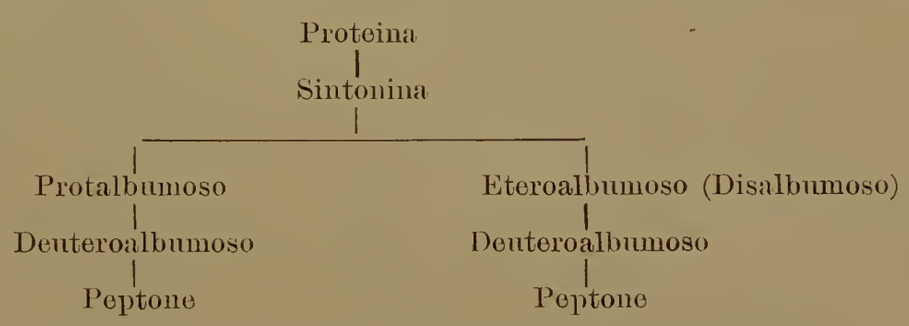
Non sono coagulati dal calore nè dall'alcool: alcuni sono per sè stessi solubili in acqua, altri hanno bisogno della presenza di sali. Molte reazioni delle proteine (precipitazione con HNO^3, acido acetico e ferrocianuro potassico, sublimato, acido fosfovolframico in presenza di acidi minerali, acido tannico, picrico, tricloroacetico, joduro mercuro-potassico in presenza di H Cl) sono comuni anche ai proteosi, con la differenza che in questi ultimi hanno luogo più lentamente, e dipendono dalla concentrazione del liquido e dalla temperatura (Neumeister). Così, per es., se a una soluzione di proteine si aggiunge un egual volume di soluzione concentrata di Na Cl e si acidula con acido acetico, si ha un precipitato, che non diminuisce, anzi aumenta, scaldando. Così si comportano anche, in principio, i proteosi; ma il precipitato ottenuto a freddo si scioglie scaldando, direttamente o in seguito all'aggiunta di poca acqua, per ricomparire quando di nuovo il liquido si raffredda. Inoltre è da notare che

le soluzioni di alcuni proteosi non precipitano con acido nitrico o acetico che quando sono saturate con Na Cl.

§ 79. **Il processo proteolitico.** — Dalla decomposizione dell'albumina si forma prima **sintonina,** e da questa due proteosi: il **protoalbumoso** e l'**eteroalbumoso,** o **proteosi primari,** separabili mediante la dialisi. L'eteroalbumoso stando a lungo in contatto con acqua o per il disseccamento subisce una specie di denaturazione, diventando insolubile in liquidi neutri. Lo si chiamò in questa sua modificazione **disalbumoso;** esso si trasforma in parte in eteroalbumoso, sciogliendolo in acqua acidulata o alcalina.

Da ciascuno dei due albumosi primari si forma, col progredire della digestione gastrica, un **deuteroalbumoso,** o **proteoso secondario,** dal quale si forma poi il **peptone vero.**

Il seguente schema del NEUMEISTER indica le dette trasformazioni:



§ 80. **Caratteri differenziali dei proteosi e dei peptoni.** — Le reazioni differenziali di questi albumosi tra loro e dal peptone si vedono a colpo d'occhio nel paradigma di HALLIBURTON (vedi pag. seguente).

Da questo prospetto si possono anche facilmente rilevare i processi necessari a separare le dette sostanze da un liquido che le contenga insieme disciolte.

Per quanto riguarda più particolarmente i **proteosi primari** e **secondari,** le differenze fra loro esistenti sarebbero, secondo NEUMEISTER, le seguenti. I proteosi primari, più vicini alle proteine madri, sono precipitati dall'HNO^3 anche in assenza di sali, mentre i secondari hanno bisogno della presenza di questi; anzi alcuni deuteroalbumosi, come il deuterovitelloso e il deuteromiosinoso, sono precipitati dall'HNO^3 solo quando si satura il liquido con Na Cl.

Inoltre da una soluzione di proteosi satura di Na Cl l'acido acetico saturato anch'esso di Na Cl precipita completamente i proteosi primari, e solo in parte i secondari. L'acido acetico e il ferrocianuro potassico precipitano facilmente i primi, solo dopo lungo tempo e molto incompletamente i secondi. I proteosi secondari derivano dai primari e hanno un peso molecolare inferiore.

I **peptoni** sono in generale più solubili dei proteosi, e, come questi, non sono coagulati dall'alcool e dal calore. Si uniscono con acidi e

Sostanza	H^2O calda e fredda	Soluzioni saline calde e fredde, p. e $NaCl$ 10 %	Saturazione con $NaCl$ o con $MgSO^4$ (reazione neutra)	Saturazione con $(NH^4)^2SO^4$	HNO^3	$CuSO^4$ 2 %	$CuSO^4 + KOH$
Protoalbumoso	Solubile	Solubile	Precipitazione (non completa)	Precipitazione	Prec. a freddo. Il precipitato si scioglie a caldo e ricompare raffreddando.	Precipitazione	Color rosso-rosa (reaz. biurete)
Eteroalbumoso	Insolubile (precipita con la dialisi)	Solubile (è in parte precipitato ma non coagulato a 65° C.)	Precipitazione (non completa)	Precipitazione	Id.	Precipitazione	Id.
Deuteroalbumoso	Solubile	Solubile	Nessuna precipitazione	Precipitazione	La reazione si verifica in presenza di un eccesso di sale.	Nessuna precipitazione.	Id.
Peptone	Solubile	Solubile	Nessuna precipitazione	Nessuna precipitazione	Nessuna precipitazione	Nessuna precipitazione	Id.

con basi, formando delle combinazioni simili a sali. Le combinazioni con gli acidi, secondo PAAL, sono in parte solubili in alcool metilico assoluto. Diffondono più facilmente dei proteosi; il loro equivalente endosmotico fu determinato in questi ultimi tempi da KUEHNE; la loro velocità di diffusione non è molto grande; KUEHNE la trovò più che 4 volte minore di quella del glicosio.

§ 81. **Proprietà.** — Il peptone puro è una polvere amorfa, color giallo-miele, molto igroscopica, di sapore amaro; allo stato di secchezza (si ottiene difficilmente, perchè col procedere del disseccamento è impossibile raggiungere un peso costante, vale a dire la sostanza col progressivo riscaldamento si decompone) stride, come l'anidride fosforica, quando viene in contatto dell'H^2O, e si discioglie, sviluppando calore. Dalla soluzione precipita solamente mediante alcool assoluto, acido tannico, che lo ridiscioglie se lo si aggiunge in eccesso, acido fosfovolframico e fosfomolibdenico (incompletamente), e sublimato, in assenza di sali neutri.

Ma essendo molto difficile ottenere del peptone vero, nel senso moderno della parola, purissimo, incerte sono finora le sue reazioni differenziali. In fondo l'unica reazione speciale, per cui KUEHNE distinse il peptone vero dai proteosi è quella di non lasciarsi precipitare dal solfato d'ammonio. Ma, secondo NEUMEISTER, esistono anche deuteroalbumosi non precipitabili completamente dal solfato ammonico; e poi ciò non basta a caratterizzare una sostanza.

I proteosi e i peptoni di cui s'è trattato sinora sono quelli derivanti dalla fibrina, che è la sostanza più in uso negli esperimenti di digestione artificiale, vale a dire sono dei **fibrinosi** e dei **fibrinpeptoni.** Anche le altre proteine animali e vegetali, però, dànno simili prodotti della digestione. Così si conoscono i **vitellosi,** i **globulosi,** i **miosinosi,** gli **albumosi,** ecc. e i peptoni corrispondenti. Queste sostanze differiscono alquanto fra loro per il modo di comportarsi verso i reagenti di precipitazione.

§ 82. **Composizione centesimale dei proteosi e peptoni.** — La composizione quantitativa dei proteosi e dei peptoni non differisce molto da quella delle proteine, donde risulta che l'assunzione d'acqua, nello sdoppiamento idrolitico, in rapporto alla grandezza della molecola proteica, è assai piccola. Dalla tabella seguente si possono rilevare le differenze esistenti fra i vari proteosi e peptoni:

Tabella trentasciesima.

	Sostanze	C	H	N	S	O	Ceneri
Kuehne e Chittenden	Globulina	51,14	7,00	14,64	1,67	25,55	—
	Protoglobuloso	51,57	6,98	16,09	2,20	23,16	—
	Eteroglobuloso	52,10	6,98	16,08	2,16	22,68	—
	Deuteroglobuloso	51,52	6,95	15,96	1,86	23,73	—
	Fibrina	52,68	6,83	16,91	1,10	22,48	—
	Eterofibrinoso	50,88	6,89	17,08	1,23	23,92	—
	Emialbumoso dell'orina	52,13	6,83	16,55	(1,09 ?)	23,40	—
(K. e Ch.)	Antifibrinpeptone (contenente un po' di mucinpeptone)	44,53	6,49	16,73	0,72	31,53	8,11
	Idem (ottenuto da fibrina pura e purificato con ac. fosfovolframico)	48,75	7,21	16,26	0,77	27,01	3,22
(Kuehne e Chitten.)	Antifibrinpeptone (grezzo)	47,30	6,73	16,83	0,73	28,41	5,25
	Idem (purificato con etere)	47,68	7,03	16,68	—	—	10,02
	Idem (purificato con acido fosfovolframico)	46,59	6,69	18,28	0,67	27,77	3,67
	Antipeptone glandolare	44,45	7,17	17,06	0,50	30,82	5,54
	Idem (purificato con acido fosfovolframico)	42,96	7,26	17,80	0,31	31,67	1,93
	Idem	44,47	7,15	17,94	0,57	29,87	2,07
(K. e Ch.)	Miosina	52,79	7,12	16,86	1,26	21,97	—
	Protomiosinoso	52,43	7,17	16,92	1,32	22,16	—
	Denteromiosinoso	50,79	7,42	17,00	1,22	23,39	—
	Miosinpeptone (Chitt. e Goodwin	49,26	6,87	16,62	1,16	26,09	—
(Neumeister)	Atmidalbumina	48,58	7,62	14,43	0,39	28,98	—
	Atmidalbumoso	48,40	7,55	13,58	0,37	30,10	—

§ 83. Scaldando i deutero-albumosi a 150° C. l'acqua incorporata nel processo idrolitico della digestione li abbandona, ed essi tornano allo stato di proteosi primari e poi di sintonina, riacquistando via via i caratteri di albumine vere. Anche i peptoni si comportano allo stesso modo.

Inoltre Danilewski ha mostrato che durante la digestione, il peso dei prodotti di questa, completamente disseccati, in confronto con quello delle sostanze madri trattate allo stesso modo, aumenta, mentre il calore di combustione dei proteosi e dei peptoni è minore di quello delle proteine originarie.

§ 84. **Atmidalbumina e suoi derivati.** — Per l'azione del vapore d'acqua soprariscaldato, ad alta tensione, sopra le proteine (un processo che può essere assomigliato a una digestione artificiale per l'effetto ultimo, che è la formazione di peptoni), si forma da queste ultime una sostanza proteica speciale che, per le sue proprietà (incoagulabilità al calore, precipitabilità con i reagenti delle albumine) sta di mezzo tra i proteosi primari e le proteine vere: è l'**atmidalbumina** (NEUMEISTER), dalla quale si può ottenere uno speciale **atmidalbumoso**, e da questa il corrispondente deuteroalbumoso e il peptone. Entrambe le sostanze sono precipitate nelle loro soluzioni da acidi diluiti. Probabilmente l'atmidalbumina è albumina idratata, ma non ancora sdoppiata (NEUMEISTER). Sostanze simili si formano per l'azione della papaiotina sulle proteine.

§ 85. **Natura dei proteosi e peptoni.** — Come dalla composizione centesimale delle proteine e dei prodotti della loro digestione si trae la convinzione, che nel processo digestivo la molecola proteica fondamentale non deve subire delle alterazioni essenziali degne di nota; così anche il fatto che le proteine, i proteosi e i peptoni hanno in comune tutte le reazioni colorate già descritte, che bolliti con H^2SO^4 diluito dànno leucina e tirosina, scaldati con $NaOH$ e sali di piombo diventano neri (ad eccezione della atmidalbumina e dell'atmidalbumoso), dimostra che nessuno dei complessi atomici fondamentali e nemmeno lo S facilmente distaccabile, i quali producono le reazioni anzidette, mancano alla molecola del prodotto finale della digestione. Anzi che di una modificazione chimica della molecola proteica, nella digestione, si potrebbe parlare dunque, come dicemmo, forse di una semplificazione dell'aggruppamento molecolare proteico, vale a dire di un processo inverso alla polimerizzazione, accompagnato da assunzione di acqua: lo scheletro della molecola rimane intatto, senza di che del resto non si spiegherebbe la facile e pronta utilizzazione dei peptoni da parte dell'organismo.

È bene però osservare che alcuni fatti si oppongono ad ammettere una graduale depolimerizzazione, avente luogo nello stesso ordine in cui gli Autori più volte qui nominati fanno derivare l'uno dall'altro i vari prodotti intermedi della digestione. Così, per es., KUEHNE ha trovato che il deuterofibrinoso diffonde meno facilmente del protofibrinoso, e CHITTENDEN e AMERMAN, che il deuteralbumoso si comporta allo stesso modo; e inoltre SABANEJEW ha trovato che il deuteralbumoso ha un peso molecolare maggiore (3200) di quello del protalbumoso (2467–2643), mentre il peso molecolare del peptone vero è incontrastabilmente di molto inferiore (400) [1]). Noi non ab-

[1]) Da ciò risulterebbe che 1 molecola di protalbumoso darebbe 6 molecole di peptone, mentre l'intiera molecola dell'ovalbumina (ved. pag. 200) darebbe circa 10 molecole di peptone, e la molecola dell'eteralbumoso ne darebbe non meno di 34.

biamo potuto fare determinazioni di attrito interno dei singoli proteosi e peptoni, ma abbiamo potuto dimostrare che l'attrito interno delle sintonine e delle alcali-albumine è minore di quello delle proteine madri, e che quello di soluzioni miste di proteosi e peptoni è ancora inferiore all'attrito interno delle medesime.

§ 86. **Combinazioni dei prodotti della digestione gastrica con l'H Cl.** — È noto che durante la digestione gastrica una parte dell'H Cl libero man mano scomparisce, essendo legato dai prodotti di scissione delle sostanze proteiche; donde la necessità di aggiungere di tanto in tanto sempre nuove quantità di H Cl perchè le digestioni peptiche artificiali non si arrestino. Già MULDER osservò che la stessa albumina può fissare il 3,7 % di H Cl. In seguito SJOEQVIST, determinando il potere di conduzione elettrica di soluzioni contenenti proteine e acido cloridriro (in accordo coi principii stabiliti da OSTWALD e ARRHENIUS) dimostrò che **l'ovalbumina si comporta verso gli acidi come una base debole, che i sali che essa forma con gli acidi minerali sono in grado notevole idroliticamente dissociati, e che il suo equivalente chimico è approssimativamente eguale a 300. La minima quantità di HCl che l'albumina può fissare corrisponde a 3,65 %.** Tale comportamento è proprio non solo dell'albumina sciolta, ma anche di quella coagulata, sospesa nell'acqua.

In seguito PANORMOFF, studiando l'azione degli acidi diluiti sull'albumina del bianco d'uovo, credette di potere stabilire per il cloridrato d'albumina la formola $C^{99} H^{156} S N^{22} O^{29} . 2 H Cl$. Egli venne inoltre alla conclusione che con gli acidi l'albumina formerebbe combinazioni chimiche, funzionando come base bivalente, che le acidalbumine sono levogire e che il loro potere specifico di rotazione aumenta circa del doppio sotto l'influenza del riscaldamento e degli acidi diluiti, distaccandosi $H^2 O$ dalla molecola proteica. Per la stessa ragione la solubilità delle acidalbumine in soluzioni acide diminuisce col riscaldamento. Il PANORMOFF ammette finalmente come probabile una depolimerizzazione della molecola proteica sotto l'azione degli acidi.

Allo stesso modo si comportano i prodotti della digestione delle sostanze proteiche. Già lo stesso SJOEQVIST e poi HERTH riferirono brevi notizie sopra le combinazioni dei proteosi con l'H Cl; quindi PAAL studiò meglio un **cloridrato di peptone di glutine** e un altro di **peptone di albume d'uovo**, notando ch'essi differivano fra loro per il contenuto in H Cl: il primo conteneva 10,38-18,94 %, il secondo 11,79-19,88 % di H Cl. Il PAAL inoltre osservò che il contenuto in H Cl aumentava con la durata dell'azione del medesimo. Differenze anche maggiori egli riscontrò, dializzando questi cloridrati di peptoni: da uno che conteneva 10,56 % di H Cl ottenne un cloridrato difficilmente diffusibile con un contenuto in H Cl pari a 5,79 % e un altro facilmente diffusibile con un contenuto in H Cl pari a 14,19 %. Notò poi che il contenuto in H Cl dei cloridrati di peptone è in ragione inversa del loro peso molecolare, donde trasse la conclusione, che il grado della scissione idrolitica delle sostanze proteiche (altrimenti detta **peptonizzazione**) può essere misurato nei vari stadi mediante il potere di fissare l'H Cl che hanno i vari prodotti dell'idratazione, potere che aumenta col progredire di questa. I cloridrati più ricchi in H Cl sono quelli del peptone vero, quelli meno ricchi sono sali dei proteosi. Questi ultimi, secondo le ricerche di PAAL, sono precipitabili dal $(NH^4)^2 SO^4$, gli altri no. L'acido tannico produce un precipitato nelle soluzioni dei cloridrati di proteosi, non in quelli dei peptoni veri, e anche NEUMEISTER infatti dice che il precipitato è prodotto dall'acido tannico sempre nelle soluzioni di proteosi, ma nelle soluzioni di peptoni solo quando vi si trova una sufficiente quantità di sali, e che si ridiscioglie in un eccesso di tannino. Anche il fatto osservato da PAAL, che nelle soluzioni di cloridrati di proteosi l'acido acetico e il ferrocianuro potassico non producono un precipitato, è spiegato dall'osservazione fatta da NEUMEISTER che in presenza di peptone il detto precipitato può mancare. Tutti i sali di PAAL sono igroscopici, ma quelli con un contenuto maggiore di H Cl lo sono più degli altri.

Recentemente O. COHNHEIM, sotto la direzione di KUEHNE, ha fatto delle determinazioni molto precise del potere che hanno i singoli proteosi e peptoni di fissare l'H Cl, servendosi di sostanze pure. Queste, in soluzione 2,5 %, sono capaci di fissare l'H Cl nelle seguenti proporzioni, espresse in per cento del loro proprio peso:

protalbumoso	4,3 %
deuteralbumoso	5,5 »
eteralbumoso	8,2 »
antipeptone	16,0 » .

Dalle ricerche di COHNHEIM si possono trarre varie conclusioni importanti, e cioè:

1.° I proteosi ed i peptoni sono basi deboli, come le proteine native (SJOEQVIST), e formano con gli acidi dei sali, che in soluzioni acquose subiscono, anche a forte concentrazione, una notevole dissociazione idrolitica. Sono combinazioni non molto stabili, onde le loro soluzioni trovansi in uno stato d'equilibrio molto labile, variabile col variare del grado di loro concentrazione. La diluzione e la temperatura influiscono notevolmente sul loro grado di dissociazione.

2.° Il peptone è una base forte, e i suoi sali sono meno facilmente dissociati dei sali dei proteosi (anche SJOEQVIST). Qui però è da ricordare che il peptone ha un peso molecolare molto minore, onde le sue soluzioni sono molto più concentrate di quelle dei proteosi, dato un eguale contenuto percentuale.

3.° Per il potere di fissare l'H Cl, i proteosi ed i peptoni possono essere rispettivamente ben distinti l'uno dall'altro; ma anche qui la serie stabilita da NEUMEISTER non si conferma; anche qui l'eteralbumoso vien dopo il deuteralbumoso.

4.° Probabilmente non si può estendere ai proteosi ciò che PAAL affermò dei peptoni, che cioè nei loro sali 1 molecola di H Cl si trovi combinata con 1 molecola di peptone. Potrebbe darsi, come ammette SJOEQVIST per il cloridrato d'albumina, che il rapporto anche per i proteosi sia di 1 molecola di sostanza proteica con 1, 2, 3. ecc. molecole di H Cl.

§ 87. **Prodotti della digestione pancreatica delle proteine.** — Sino a pochi anni or sono si credette che le proteine fossero modificate dal succo pancreatico appena differentemente che dal succo gastrico. Tutto ciò che di diverso si otteneva nelle digestioni pancreatiche artificiali era attribuito alla putrefazione intestinale. Le ricerche ulteriori hanno dimostrato che ciò non era vero.

Il processo proteolitico. — La proteina, sotto l'azione della tripsina in soluzione alcalina, dapprima si rammollisce e discioglie, senza rigonfiarsi e denaturarsi; così disciolta, si scinde in molecole più piccole, per la progressiva disgregazione della sua architettura polimerica. Nella digestione della fibrina cruda, si può ottenere come prodotto intermedio una globulina coagulantesi a 55°-56° C (HERRMANN). I primi prodotti diretti sono deuteroalbumosi; non si formano proteosi primari; e subito ai primi succede la formazione di peptoni. Ma, mentre la digestione gastrica non scompone altrimenti questi ultimi, nella digestione pancreatica si formano due specie di peptoni: un **emipeptone**, che sotto l'azione prolungata del succo pancreatico si decompone negli acidi amidati — leucina, tirosina, acido aspartico —

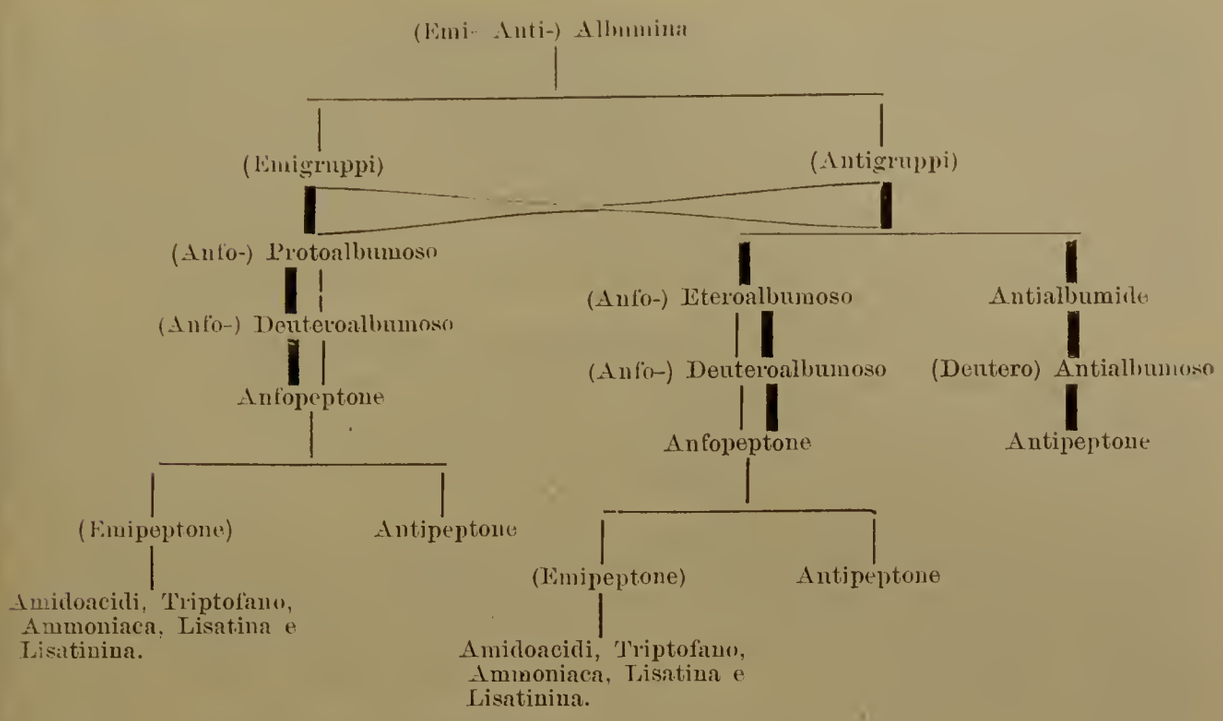
e inoltre in ammoniaca, lisatina, lisatinina, e in un pigmento chiamato triptofano (cromogeno proteico di STADELMANN), e un **antipeptone**, che resiste a quell'azione, ma che del resto può esser decomposto nelle stesse sostanze, nel modo ordinario, per mezzo dell'ebollizione con acido solforico diluito. Si noti che gli amidoacidi non derivano direttamente dalla molecola proteica accanto al peptone, ma si formano solo per decomposizione di questo. « La molecola proteica contiene per ciò un maggior numero di complessi atomici, di cui circa la metà si decompone facilmente, mentre l'altra metà si scinde difficilmente. I primi complessi atomici son detti dell'**emigruppo**, gli ultimi dell'**antigruppo**; nello stesso tempo è da notare che ciascuno dei due gruppi contiene nuclei aromatici ed altri della serie grassa. Nella digestione gastrica, in cui non compariscono la leucina e la tirosina, i due gruppi **emi-** ed **anti-** rimangono riuniti, e il peptone che ne risulta è detto per ciò **anfopeptone**. Nella digestione pancreatica, invece, si forma, verisimilmente, dapprima anche **anfopeptone**, che però subito si scinde in emi- ed anti-peptone » (NEUMEISTER). Secondo SCHMIEDEBERG, la scissione avverrebbe conformemente alla seguente equazione:

$$\underbrace{C^{108}\,H^{178}\,N^{30}\,O^{15}\,[+\,{}^1/_2\,H^2\,O]}_{\text{(anfopeptone)}} = \underbrace{C^{78}\,H^{130}\,N^{26}\,O^{35}\,[+\,{}^1/_2\,H^2\,O]}_{\text{(antipeptone E)}} +$$

$$+\,\underbrace{2\,(C^6\,H^{13}\,NO^2)}_{\text{(leucina)}} + \underbrace{2\,(C^9\,H^{11}\,NO^3)}_{\text{(tirosina)}}.$$

in cui tanto l'anfopeptone quanto la tirosina sono considerati come privi di S. Il seguente paradigma illustra la derivazione di queste sostanze:

Tutti i proteosi ricordati sinora, in seguito ai recenti studi di KUEHNE, debbono esser considerati come **anfoproteosi**, perchè dànno, come prodotti terminali di una prolungata digestione triptica, amidoacidi e antipeptone. Ma i gruppi **emi-** ed **anti-** non si trovano contenuti in quantità uguale nell'anfiproteoso. Nel paradigma seguente i tratti sottili e grossi corrispondono a un minore e rispettivamente maggiore contenuto di gruppi emi- o anti-.



In seguito a una forte digestione prolungata peptica o triptica, e specialmente nel trattamento delle proteine con acidi minerali diluiti bollenti, si osserva regolarmente che rimane indietro una sostanza proteica, la quale in seguito si trasforma eslcusivamente in antipeptone. A questa sostanza, la cui resistenza all'idratazione fu osservata dapprima da SCHUTZENBERGER, KUEHNE dette il nome di **antialbumide.**

Poichè, dunque, i gruppi emi- sono destinati a scindersi in prodotti ulteriori e più bassi (amidoacidi), parrebbe che il solo peptone vero, quello cioè dato dai gruppi **anti-** fosse l'unico prodotto della digestione utilizzato dall'organismo. Ma vedremo che nella digestione la scomposizione dei gruppi **emi-** avviene solo in piccola parte; essi vengono assorbiti relativamente presto, e così sono sottratti all'azione decomponente prolungata del succo pancreatico e della putrefazione intestinale.

Le reazioni dei proteosi e dei peptoni che si formano nella digestione triptica sono le stesse di quelle descritte per le medesime sostanze che si formano nella digestione peptica.

§ 88. Le diverse proteine presentano una difficoltà maggiore o minore alla digestione, non solo a seconda della loro qualità, ma anche dell'essere genuine o in qualche modo modificate, disciolte o coagulate, ecc. Non è stato ancora fatto uno studio sistematico della varia resistenza che presentano le diverse proteine (le diverse sostanze proteiche in generale) alla digestione peptica e triptica: si sa solamente, a parte le differenze dovute allo stato fisico di esse, che le globuline del siero del sangue e i globulosi sono molto resistenti anche alla tripsina. In alcune ricerche di confronto sul tempo che

impiegano quantità in peso eguali di sieralbulina e di sieroglobulina, separate o mescolate insieme, ad essere peptonizzate da succo gastrico artificiale, trovai anch'io che costantemente il decorso della peptonizzazione della globulina è considerevolmente più lento di quello della sierina. La desamidoalbumina di SCHIFF, da me sottoposta a ripetute prove di digestione cloridropeptica artificiale, non che peptonizzarsi si scioglie appena.

§ 89. Ma possiamo noi considerare i vari proteosi e peptoni come altrettante individualità chimiche ben distinte da caratteri propri? Probabilmente no, poichè noi ci troviamo qui innanzi ad un caso analogo a quello dei prodotti di scissione idrolitica dell'amido, ed abbiamo forse tanto diritto a ritenere come individui chimici i proteosi quanto ne abbiamo a ritenere come tali le varie destrine.

I fatti che ci autorizzerebbero ad accettare quest'opinione sono diversi, e in parte li abbiamo già accennati, ma vogliamo qui brevemente riassumerli.

1. Non esiste una notevole differenza nella composizione centesimale dei vari proteosi e peptoni (eccetto l'antipeptone di KUEHNE) fra loro e dalle proteine donde derivano. Solo, secondo KUEHNE e CHITTENDEN, il peptone vero presenterebbe un minore contenuto in C dei corrispondenti proteosi, mentre conserverebbe quasi la stessa quantità di H e una quantità di N eguale o di poco superiore. Invece CHITTENDEN trovò nell'antipeptone di caseina un contenuto maggiore in C che nei corrispondenti proteosi. Tuttavia sembra potersi ammettere che il peptone vero contiene una minor quantità di C.

2. L'unica reazione, in base alla quale fu fatta la distinzione fra proteosi e peptoni, è il modo di comportarsi di queste sostanze verso il solfato ammonico, onde HAMMARSTEN dubita che essa sola sia sufficiente a caratterizzare due gruppi di sostanze proteiche. Abbiamo visto poi che v'ha un proteoso, il quale non è precipitato completamente dal solfato ammonico: il deuteroalbumoso (NEUMEISTER), sì che il dubbio di HAMMARSTEN ne rimane avvalorato. Tutte le altre reazioni, o sono comuni ai proteosi e ai peptoni, o non valgono a separare completamente le varie sostanze le une dalle altre.

3. Questa stessa difficoltà di separazione, e la quasi impossibilità di ottenere del proteoso o del peptone affatto puro, dimostrano che, invece di sostanze chimiche ben definite, qui si tratta di stadi di passaggio dall'albumina al peptone, intimamente legati gli uni agli altri e geneticamente affini. Probabilmente con altri mezzi di ricerca si scopriranno altri corpi, oltre quelli già descritti, come è avvenuto per le destrine; corpi, i quali probabilmente non sono che un corpo unico nelle sue varie fasi di scomposizione idrolitica.

4. Finalmente non deve dimenticarsi che la distinzione che noi

facciamo di questi corpi è basata sui caratteri della loro precipitazione, quale viene provocata da sostanze diverse. Ora la quantità di sostanza proteica, di acido o di alcali, di sali neutri, di acqua, ha un'influenza notevole sulla precipitabilità dei proteosi e dei peptoni (HERTH), come del resto su quella di altre sostanze proteiche, in guisa tale che uno stesso proteoso potrebbe comportarsi differentemente, variando l'una o l'altra delle condizioni di soluzione in cui esso si trova (HERTH, HAMBURGER).

Data l'incertezza che esiste ed esisterà finchè questi corpi creduti differenti non siano stati isolati e preparati allo stato di purezza, è naturale che anche le opinioni sul processo di loro formazione siano molto differenti.

Secondo alcuni la formazione dei proteosi e dei peptoni costituirebbe un processo di scissione idrolitica, con depolimerizzazione delle grandi molecole proteiche originarie. A conferma di questa ipotesi, accettata dalla maggioranza degli autori, starebbe il fatto che il peptone, trattato con anidride acetica o per mezzo del riscaldamento, torna allo stato di proteina, perdendo acqua (HENNINGER, HOFMEISTER).

Altri considerano il peptone e le proteine come corpi isomeri.

E finalmente, secondo GRIESSMAYER, le proteine essendo costituite da gruppi di micelle, la peptonizzazione consisterebbe nella scomposizione di questi in micelle semplici e poi in molecole; cosicchè, mentre una soluzione d'albumina non sarebbe propriamente che una sospensione di gruppi micellari in un certo stato di imbibizione e di rigonfiamento, una soluzione di peptone sarebbe invece una vera soluzione di molecole d'albumina.

Recentemente SCHMIEDEBERG ha calcolato, sulla base dei numerosi dati analitici che finora si posseggono, le **formule fondamentali** (ved. sopra) di alcuni proteosi e peptoni, che sarebbero:

Protofibrinoso.	$C^{102} H^{150} N^{30} SO^{31} + 5 H^2O$
Eterofibrinoso.	$C^{102} H^{150} N^{30} SO^{31} + 5 H^2O$
Deuterofibrinoso. . . .	$C^{102} H^{150} N^{30} SO^{31} + 5 H^2 O$
Disfibrinoso	$C^{105} H^{156} N^{30} SO^{33} + 4 H^2 O$
Emialbumoso solubile. .	$C^{105} H^{156} N^{30} SO^{33} + {}^1/_2 H^2 O$
Emialbumoso insolubile .	$C^{102} H^{150} N^{30} SO^{31} + {}^1/_2 H^2 O$
Anfopeptone	$C^{108} H^{178} N^{30} SO^{43}$
Antipeptone	$C^{108} H^{178} N^{30} SO^{43} + {}^1/_2 H^2 O$
Antipeptone E	$C^{78} H^{130} N^{26} O^{35} + {}^1/_2 H^2 O$

Dallo studio di queste formole fondamentali e dal loro confronto con le formole delle sostanze madri risulta, secondo SCHMIEDEBERG, che « la fibrina nella digestione peptica e triptica non subisce semplicemente un'idratazione, ma si scinde successivamente, poichè i

prodotti di scissione, per quanto riguarda il rapporto fra gli atomi di C e di N, si presentano inegualmente costituiti, ciò che non sarebbe possibile se si trattasse d'una mera idratazione. Ma non si tratta nemmeno d'un semplice processo idrolitico, in cui si formino due prodotti di scissione con assunzione di 1 molecola di H^2O, bensì la scissione ha luogo con simultanea più o meno grande idratazione. Così, p. e., mentre la scissione del fibrinogeno in fibrina e fibringlobulina avviene per semplice idrolisi, alla scissione della fibrina in α- e β-fibrinoso partecipano non meno di 8 molecole d'H^2O ». Così che, secondo SCHMIEDEBERG, il **processo proteolitico consisterebbe in una vera scissione accompagnata da più o meno grande idratazione delle sostanze madri.**

§ 90. **Prodotti della digestione delle altre sostanze proteiche.** — Descrivendo i prodotti della digestione peptica e pancreatica, noi abbiamo principalmente avuto presente in realtà la digestione delle proteine genuine animali. Conviene ora dire qualche parola sul processo proteolitico delle altre sostanze proteiche.

Fra le **sostanze proteiche vegetali** furono studiate principalmente, dal punto di vista dei loro prodotti di digestione, la glutincaseina e la vitellina o globulina vegetale. La **glutincaseina** è una sostanza proteica vegetale, che ha la seguente composizione centesimale:

C	H	N	S	O	
52,87	6,99	15,86	1,17	23,11	(CHITTENDEN e SMITH)
52,94	7,04	17,14	0,96	21,92	(RITTHAUSEN),

e i seguenti rapporti con la caseina del latte nella sua chimica costituzione:

	Glutincaseina (CHITTENDEN e SMITH)	Lattocaseina (CHITTENDEN e PAINTER)	Lattocaseina (HAMMARSTEN)
C	52,87	53,30	52,96
H	6,99	7,07	7,05
N	15,86	15,91	15,65
S	1,17	0,82	0,72.

Digerita in succo gastrico dà i seguenti prodotti di scomposizione idrolitica, come prodotti primari: un protoglutincaseoso, avente le proprietà dei proteosi primari; un eteroglutincaseoso, simile agli eteroproteosi; e un deuteroglutincaseoso, simile ai deuteroproteosi.

La glutincaseina dunque, digerita in succo gastrico artificiale, si converte in prodotti solubili, che stanno alla sostanza madre come gli albumosi e i fibrinosi all'albumina e alla fibrina. Nessuna differenza degna di nota si presenta fra la digestione e i suoi prodotti di questa sostanza proteica vegetale e quelli delle proteine animali. Nell'un caso e nell'altro, si ottiene una gran quantità di proteosi e una piccola quantità di peptone vero. I glutincaseosi, tanto nella

loro composizione centesimale quanto nelle loro reazioni, somigliano agli ordinari proteosi; solo la graduale diminuzione percentuale del C nei singoli prodotti della digestione suggerisce che essi si formano per un graduale processo l'idratazione.

La **globulina vegetale** cristallizzata o **vitellina,** la cui composizione e i cui rapporti con la globulina amorfa si vedono nella seguente tabella:

Tabella trentasettesima.

Elementi %	(Chittenden e Hartwell)			(Barbieri)	(Gruebler)	(Ritthausen)
	Globulina cristallizz.	Globulina sferoide	Globulina amorfa	Globulina amorfa	Globulina cristallizz.	Globulina cristallizz.
C	51,60	52,03	51,81	51,88	53,21	51,61
H	6,97	6,93	6,94	7,51	7,22	7,00
N	18,80	19,08	18,71	18,08	19,22	—
S	1,01	1,04	1,01	0,60	1,07	—
O	21,62	20,92	21,53	21,93	19,10	—
Ceneri	0,30	0,36	—	1,11	0,18	—

digerita in succo gastrico artificiale, dà oltre una certa quantità di antivitellide insolubile e una traccia di eteroglobuloso, un proto- e un deuteroglobuloso, la cui composizione presenta i seguenti rapporti con la sostanza madre:

	C	H	N
Vitellina	51,60	6,97	18,80
Protovitelloso . . .	51,52	6,98	18,67
Deuterovitelloso . .	50,42	6,74	18,43
Deuterovitelloso (della seconda digestione).	49,27	6,70	18,78.

Da queste cifre si vede come nel deuterovitelloso della seconda digestione il C è notevolmente minore, mentre l'H e l'N non presentano differenze degne di nota dalla vitellina. Questi vitellosi stanno alla vitellina come altri globulosi, p. e. i miosinosi, stanno alla miosina.

Neumeister, nella digestione peptica e triptica della **fitovitellina** ottenne sintonina comune, antivitellide, protovitelloso, eterovitelloso (in tracce), disvitelloso e deuterovitelloso.

Le **nucleoalbumine**, durante la digestione gastrica, si scindono in una proteina, che viene ulteriormente peptonizzata, e nella pseudonucleina con cui questa è legata. La resistenza che questa pseudonucleina presenta all'azione dei succhi digerenti non è molto grande, e varia a seconda della sua provenienza. Molte di queste pseudonucleine rimangono scisse totalmente o in parte, o solamente vengono ad esser disciolte dall'azione prolungata di un succo gastrico naturale o artificiale molto energico.

Per quanto riguarda più specialmente i prodotti di digestione della **caseina**, si sa che essa dà, da una parte, dei caseosi e poi dei caseinpeptoni, e dall'altra, una pseudonucleina contenente P. Ma i caseosi e i caseinpeptoni sono stati trovati più o meno ricchi di P, e d'altra parte nella pseudonucleina, che si separa durante la digestione cloridropeptica, si trova solo il 6-60 % del P totale della caseina (v. MORACZEWSKI), onde si deduce che nella caseina non tutto il P è contenuto in forma di pseudonucleina, o in altre parole che la caseina può contenere P organicamente combinato senza che esso si trovi legato alla pseudonucleina. Ciò è del resto anche dimostrato dal fatto che, per esempio, la caseina del latte di donna, benchè contenga del P, non pare che contenga della pseudonucleina, poichè non lascia alcun residuo in seguito alla digestione gastrica. LUBAVIN, SZONTAG, MORACZEWSKI hanno concordemente trovato che il residuo della digestione del latte di vacca diventa sempre più ricco di P come progredisce la digestione. Evidentemente ciò avviene, perchè sempre nuove quantità di proteine combinate nel gruppo pseudo-nucleinico sono attaccate e disciolte dal succo digerente. Questa pseudonucleina del latte di vacca non finisce però mai per sciogliersi completamente per quanto si prolunghi la digestione.

Ma molto interesse presentano anche le prime modificazioni che subisce la caseina quando viene a contatto del succo gastrico nella forma in cui essa si trova naturalmente nel latte. Le dette modificazioni sono operate in parte da un enzima speciale — la **rennina** o **chimosina**, — contenuto nel succo gastrico e in parte dall'HCl del medesimo. Seguiremo particolarmente l'HAMMARSTEN nell'esposizione di questi fatti, perchè egli si è occupato prima e più profondamente dell'argomento.

Ciò che caratterizza sopratutto la caseina è la sua proprietà di coagulare sotto l'influenza della rennina, in presenza di una sufficiente quantità di sali di calcio. In soluzioni prive di questi sali, essa non coagula, ma rimane talmente modificata dall'enzima, che basta poi l'aggiunta dei sali di Ca, anche dopo aver distrutto la rennina col riscaldamento, per vederla rapprendersi in una massa solida, che ha tutte le proprietà del cacio. L'azione della chimosina si esplica dunque sulla caseina anche in assenza di sali di Ca, e questi ultimi hanno solamente importanza per la precipitazione del cacio. Questi fatti furono in seguito anche studiati e pienamente confermati da ARTHUS e PAGES.

Il cacio che si forma nella coagulazione del latte contiene abbondanti quantità di fosfato di calcio. Secondo SOXHLET e SOELDNER solo i sali solubili di Ca hanno importanza nel processo della coagulazione, mentre indifferente è la presenza di fosfato calcico insolubile. Secondo COURANT la calciocaseina può trascinare seco nella coagu-

lazione del fosfato dicalcico che eventualmente si trovi nella soluzione trasformandolo in fosfato tricalcico, per cui nel siero rimane sciolto il fosfato monocalcico.

Non ostante queste ricerche, HAMMARSTEN afferma che il decorso della coagulazione enzimatica della caseina non è ancora sufficientemente chiarito; ma molte osservazioni parlano in favore dell'ipotesi che, durante questo processo, la caseina si scinda in un prodotto difficilmente solubile, affine per la sua costituzione alla caseina, detto **paracaseina** (o **cacio**), che forma la parte principale, e in un'altra sostanza facilmente solubile, meno ricca di C e di N (50,3 % di C e 13,2 % di N, KOESTER), simile a un proteoso, detta **sieroproteina**, che si forma in piccola quantità. La paracaseina non è altrimenti modificata dalla chimosina e non ha, allo stesso grado come la caseina, la capacità di tenere in soluzione il fosfato calcico.

Anche la paracaseina è una nucleoalbumina, e forma con le basi, siano esse gli alcali caustici o la calce, sali solubili in acqua. I sali della paracaseina posseggono, in molto maggior grado di quelli della caseina, la proprietà di formare sali doppi con sali solubili di calcio di qualunque natura, i quali non sono solubili in liquidi neutri. Queste condizioni esistono appunto nel latte, onde la calcioparacaseina precipita in forma di grossi coaguli (cacio) subito dopo la sua formazione, combinata con sali solubili di calcio che non fanno mai difetto nel latte. Così si spiega l'azione dei sali di calcio liberi e solubili nel fenomeno della coagulazione del latte.

Altre condizioni che facilitano la coagulazione enzimatica sono: una leggera acidificazione del latte, che per sè stessa però non sia sufficiente a precipitare la caseina; il far gorgogliare a traverso il latte dell'CO^2, prima di far agire la chimosina, per cui una parte del fosfato tricalcico sospeso viene trasformato in fosfato monocalcico solubile e in carbonato monocalcico. Per contro, l'aggiunta di carbonati alcalini, la cottura del latte, la diluzione di esso con acqua ne ritardano la coagulazione.

Secondo NEUMEISTER, nello stomaco la coagulazione del latte è operata probabilmente dalla chimosina, dopo che l'HCl ne ha facilitato l'azione trasformando la calciocaseina neutra in acida e liberando del $Ca\,Cl^2$. La precipitazione avverrebbe in forma di calcioparacaseina, dunque, non in forma di caseina libera. Su questa calcioparacaseina solida comincia poi ad esplicarsi l'azione digestiva dell'acido pepsincloridrico, scindendo, come abbiamo visto, la nucleoalbumina in pseudonucleina e in proteina, che viene poi trasformata in sintonina, in caseosi e in anfopeptone. Secondo NEUMEISTER l'azione specifica della chimosina non si esplica solamente sopra la caseina, ma probabilmente anche sopra altre nucleoalbumine in modo analogo, poichè altrimenti non si capirebbe la sua presenza nello stomaco degli uccelli e dei pesci e nei succhi lattiginosi di molte piante.

Abbiamo detto che i sali di calcio servono principalmente a favorire la precipitazione della caseina, dopo che la chimosina vi ha provocato quella speciale modificazione che la rende coagulabile. Questo fatto è ampiamente illustrato da alcune esperienze di S. RINGER. Egli aveva in altro lavoro dimostrato che i sali di Ca hanno la proprietà di provocare la coagulazione col calore delle alcaliproteine, o perchè diminuiscono il potere solvente del mestruo o perchè alterano la sostanza proteica in modo da renderla meno solubile. Gli stessi sali del resto precipitano le alcaliproteine, anche se si trovano sciolte in un eccesso di alcali e ne hanno subìto da lungo tempo l'azione. Per quanto riguarda più particolarmente la caseina, RINGER osservò che il latte molto diluito non coagula per l'azione della chimosina, perchè i sali di Ca vi si trovano in quantità relativamente troppo piccola: l'aggiunta d'un po' di $Ca\,Cl^2$ produce subito coagulazione, un fatto, del resto, che si verifica anche per il sangue. Ma se prima di aggiungere il $Ca\,Cl^2$ si aggiunge del $Na\,Cl$, il latte non coagula più o solo mediante un eccesso di $Ca\,Cl^2$: in altre parole v'ha un antagonismo fra Na e Ca, antagonismo che RINGER constatò anche fra il KCl, il $NH^4\,Cl$ e il $Ca\,Cl^2$. RINGER poi confermò la scoperta di HAMMARSTEN, che cioè la chimosina produce la modificazione chimica per cui il caseinogene si trasforma in caseina, ma che questa rimane in soluzione, finchè per l'aggiunta di un sale di calcio venga modificata e ridotta in uno stato granulare. I fini granuli poi si uniscono a formare il grosso coagulo di cacio. Ora RINGER è riescito ancora a poter dimostrare che l'antagonismo fra i sali di Na, di K e di NH^4 da una parte e i sali di Ca dall'altra si riferisce solamente a questa trasformazione granulosa della caseina già modificata dalla chimosina, ossia alla sua precipitazione, non già alla modificazione chimica operata dall'enzima, la cui azione non è impedita da alcun sale.

Riassumendo, la coagulazione del latte o di una soluzione di caseina, risulta di due distinti processi: una modificazione chimica speciale di questa nucleoalbumina, operata dall'enzima, per cui essa diventa coagulabile; la coagulazione stessa, la quale non si fa che in presenza di sali solubili di calcio, che non hanno alcuna influenza sul primo processo, e sono inibiti nella loro azione dai sali di Na, di K, di NH^4. Vedremo che simili fatti hanno luogo nella coagulazione del sangue e nel fenomeno della contrazione muscolare.

Per quanto riguarda l'azione dell'HCl del succo gastrico, si comprende facilmente che esso debba precipitare la caseina, che nel latte si trova combinata coi sali di calcio in forma di sale neutro, scomponendo questa combinazione. Avendo la caseina i caratteri di un acido polibasico, per l'azione dell'HCl del succo gastrico si forma da prima $Ca\,Cl^2$ e calciocaseina acida solubile, e poi, per l'azione di una quantità maggiore di HCl, caseina libera, insolubile.

Il succo pancreatico di cane (ottenuto da fistole pancreatiche temporanee) produce anche un'alterazione del **caseinogeno** (HALLIBURTON e BRODIE) o caseina naturale. Il precipitato che si forma a 35°-40° C, a differenza di quello che si forma sotto l'azione della chimosina, si presenta finemente granuloso, il latte apparendo all'occhio nudo a pena modificato nella sua fluidità; raffreddando il liquido però, si vede deporsi un coagulo coerente, che non si retrae molto e che si risolve novamente in fini granuli col successivo riscaldamento. Questo fenomeno non è abolito, ma a pena inibito, dall'aggiunta di una tal quantità di ossalato potassico che sarebbe sufficiente ad abolire affatto la coagulazione chimosinica. Le esperienze fatte con estratti di pancreas dettero simili risultati; ma questi possono esser meno evidenti se l'azione dell'enzima triptico è troppo energica. HALLIBURTON e BRODIE hanno voluto chiamare provvisoriamente **caseina pancreatica** il detto precipitato granuloso, il quale sotto l'azione della chimosina può convertirsi in vera caseina (noi diremmo cacio). La seguente tabella indica i rapporti di solubilità del caseinogeno di HALLIBURTON (o caseina naturale), della caseina di HALLIBURTON (o cacio) e della caseina pancreatica di HALLIBURTON e BRODIE.

Tabella trentottesima.

	Liquidi.	*a.* Caseinogeno di HALLIBURTON (caseina).	*b.* Caseina di HALLIBURTON (cacio)	*c.* Caseina pancreatica di HALLIBURTON e BRODIE.
A.	In acqua + $CaCO^3$.	Solubile.	Insolubile.	Insolubile.
B.	In acqua di calce.	Solubile; difficilmente precipitabile dal $CaCl^2$.	Solubile; facilmente precipitabile dal $CaCl^2$; il precipitato prodotto da tracce di $CaCl^2$ a 40° C. è solubile a freddo.	Solubile; facilmente precipitabile dal $CaCl^2$; il precipitato prodotto da tracce di $CaCl^2$ a 40° C, non è solubile a freddo.
C.	In soluzione d'acqua di calce.	Convertito in caseina da tracce di acido fosforico e di chimosina.	Tanto facilmente precipitabile da tracce di sali di calcio, che l'azione della chimosina non potrebbe propriamente saggiarsi.	(Si comporta come il caseinogeno).
D.	In soluzione 0.5 % di bicarbonato sodico.	Solubile; facilmente precipitabile dal $CaCl^2$; il precipitato prodotto da tracce di $CaCl^2$ a 40° C si scioglie a freddo.	Solubile; difficilmente precipitabile dal $CaCl^2$.	Solubile; facilmente precipitabile dal $CaCl^2$; il precipitato prodotto da tracce di $CaCl^2$ a 40° C non si scioglie a freddo.
E.	In soluzione 5 % di NaCl.	(Il precipitato prodotto aggiungendo $CaCl^2$ a B). Solubile.	(Il precipitato prodotto aggiungendo $CaCl^2$ a B). Insolubile.	(Il precipitato prodotto aggiungendo $CaCl^2$ a B). Leggermente solubile.

§ 91. Le **lecitalbumine** di LIEBERMANN non sono minimamente attaccate dal succo gastrico, un fatto che quell'A. utilizza nella loro preparazione.

Quanto alle **nucleine** vere, che si mettono in libertà per opera di questi succhi durante la digestione dei **nucleoproteidi**, si sa che, per prepararle allo stato di purezza, si suole cominciare dal sottoporre il materiale che le contiene ad una digestione cloridro-peptica. Ma mentre prima si credette da MIESCHER, il quale scoprì la nucleina nel residuo non digerito di piociti sottoposti all'azione dell'acido pepsin-cloridrico, da HOPPE-SEYLER, dallo stesso KOSSEL, da GEOGHEGAN, v. JAKSCH, LUBAVIN, ecc., che la resistenza della nucleina fosse sempre la stessa, da qualunque proteide essa derivasse, ora, in seguito a ricerche più estese ed accurate, siamo costretti ad ammettere una differenza fra le nucleine di diversa origine, relativamente alla loro resistenza al succo gastrico. Ma più che queste differenze, dipendenti forse in parte da una differente costituzione chimica e da una differente stabilità delle singole nucleine (e in parte anche dall'aver sottoposto alla digestione gastrica non sempre sostanze affatto pure e scevre di altre proteine facilmente digeribili), a noi interessa di sapere in generale come si comportano le nucleine verso i due succhi digerenti principali: il succo gastrico e il succo pancreatico.

Dalle ricerche di POPOFF, a questo proposito, risulta che la soluzione delle sostanze nucleiniche avviene solo in piccolissima quantità nello stomaco, mentre ha luogo in quantità considerevole nell'intestino, sotto l'azione del succo pancreatico. Non può dunque essere esclusa la probabilità che queste importantissime sostanze fosforate siano assorbite come tali, in soluzione, dal tubo digerente, e in seguito assimilate. La putrefazione intestinale ha sulle nucleine la stessa influenza dissolvente che ha il succo pancreatico. Notevole è poi il fatto che, mentre le nucleine dei tessuti teneri e giovani passano quasi completamente in soluzione, quelle dei tessuti vecchi e duri oppongono una resistenza molto maggiore all'azione solvente dei liquidi alcalini in generale.

Anche GUMLICH ha potuto dimostrare la possibilità dell'assorbimento dell'acido nucleinico e della nucleina dei tessuti, avendo osservato un aumento dell'eliminazione del P per l'orina (più della metà del P contenuto nell'acido nucleinico introdotto), in seguito all'introduzione di acido nucleinico per la via del tubo digerente. Evidentemente, dunque, può avvenire un'introduzione nel corpo di P organicamente combinato.

Le nucleine artificialmente preparate da MILROY si comportano come le nucleine naturali verso il succo gastrico artificiale.

L'**emoglobina** viene decomposta dal succo gastrico in acidalbumina e in ematina, e una scomposizione dei **cromoproteidi** ha luogo nel-

l'intestino per l'azione del succo pancreatico. I costituenti proteici vengono in seguito peptonizzati, mentre l'ematina viene ulteriormete modificata, specialmente nell'intestino e da ultimo espulsa con le feci.

Sembra che anche la **mucina** sia dal succo gastrico decomposta nel gruppo globulinico, che poi viene peptonizzato, e in una sostanza riducente, come avviene quando si tratta la stessa sostanza *in vitro* con un acido a caldo.

§ 92. CHITTENDEN e SOLLEY, avendo sottoposto della **gelatina** pura alla digestione gastrica e pancreatica, hanno trovato almeno tre distinti prodotti, due dei quali — il protagelatoso e il deuterogelatoso — si formano nell'una e nell'altra digestione nell'identico modo. Essi si distinguono dal gelatinpeptone, per la loro precipitabilità con solfato ammonico. I gelatosi sono facilmente solubili in acqua calda, diffondono lentamente, e somigliano nella loro composizione alla gelatina, come risulta dalla seguente tabella:

Tabella trentanovesima.

Elementi %	Gelatina	(Digestione gastrica)		(Digestione pancreatica)	
		Protogelatoso	Deuterogelatoso	Protogelatoso	Deuterogelatoso
C	49,38	49,98	49,23	49,45	49,07
H	6,81	6,78	6,84	6,61	6,66
N	17,97	17,86	17,40	17,81	17,52
S	0,71	0,52	0,51	0,57	0,65
O	25,13	24,86	26,02	25,56	26,10
Ceneri	1,26	1,98	1,08	1,75	1,08

Gli Autori non trovarono traccia di eterogelatoso.

Secondo HOFMEISTER, durante la scomposizione idrolitica della gelatina, trattata per 30 ore con 100 parti di acqua bollente, si ottengono due sostanze, che si staccano contemporaneamente dalla molecola della gelatina, e ch'egli chiamò **semiglutine** ed **emicollina**. La seguente equazione mostrerebbe la parentela delle due sostanze col collageno:

$$\underbrace{C^{102} H^{149} N^{31} O^{38}}_{\text{(collageno)}} + 3\,H^2 O = \underbrace{C^{55} H^{85} N^{17} O^{22}}_{\text{(semiglutine)}} + \underbrace{C^{47} H^{70} N^{14} O^{19}}_{\text{(emicollina)}}.$$

Queste due sostanze sono però identiche nelle loro reazioni al proto- e al deuterogelatoso di CHITTENDEN e SOLLEY, e debbono per ciò, secondo NEUMEISTER, esser considerate come corpi formantisi successivamente dalla gelatina.

I gelatosi non si gelatinizzano più; essi si formano anche per la semplice cottura in molta acqua, o per un lungo riscaldamento con

acidi o alcali diluiti, o per l'azione del vapor d'acqua ad alta tensione e alla temperatura di 140° C.

PAAL ha dimostrato che l'H Cl si combina con questi gelatosi, e col gelatinpeptone formando dei veri cloridrati, che sono in parte solubili, in parte insolubili in alcool etilico e metilico.

Il gelatinpeptone contiene meno C e più acqua della gelatina, donde deriva, ciò che conferma l'ipotesi che la peptonizzazione consista in un processo di progressiva idratazione. Il peso molecolare del gelatinpeptone, determinato da PAAL col metodo di RAOULT, è 352, mentre egli per la gelatina trovò valori eguali a 878-960. Questo Autore è riescito recentemente a disamidare il glutinpeptone ottenendo un **desamidoglutinpeptone** in un modo analogo a quello con cui egli stesso e SCHIFF avevano ottenuto la desamidoalbumina; ma questo glutinpeptone disamidato dà le reazioni del biurete.

L'**elastina** dà prima un protelastoso che poi passa in deuterelastoso; il primo precipita mediante la saturazione del liquido con Na Cl, mentre il secondo precipita solo dopo l'aggiunta di acido acetico al liquido già saturato con quel sale. Anche nella bollitura con H Cl diluito si formano elastosi. Un elastinpeptone non si ottiene nè per effetto della digestione gastrica, nè per effetto della cottura con acidi diluiti. Dalla seguente tabella si vede che la composizione centesimale degli elastosi non differisce notevolmente da quella dell'elastina, come non differiva la composizione dei gelatosi da quella della gelatina. Elastosi e gelatosi hanno le stesse reazioni colorate delle rispettive loro sostanze madri.

Tabella quarantesima.

	Sostanze	C	H	N	S	O	Ceneri
	Elastina	54,08	7,20	16,85	0,30	21,57	0,81
	Idem	54,24	7,27	16,70	—	21,79	—
(CHITTENDEN e HART)	Protoelastoso ottenuto mediante l'azione di acidi e acqua a 100° C. Precipitato con alcool	54,39	7,17	16,65	—	21,79	3,71
	Deuterelastoso ottenuto allo stesso modo . .	53,26	7,12	16,70	—	22,92	2,07
	Protoelastoso ottenuto per digestione con H Cl e pepsina. . .	54,52	7,01	16,96	—	21,51	1,34
	Idem	54,27	7,13	17,21	—	21,39	1,53
	Deuteroelastoso ottenuto allo stesso modo .	53,79	6,99	17,26	—	21,96	2,96
	Idem	53,11	7,08	16,85	—	22,96	5,02

Notevole è dunque il fatto che nè la gelatina nè l'elastina dànno, in seguito alla digestione pepsincloridrica, eteroproteosi, come li

dànno le proteine vere; vale a dire questi albuminoidi non subiscono, come le proteine, una scissione in due gruppi di prodotti differenti.

La **cheratina** non è attaccata dal succo gastrico, almeno degli animali superiori; ma sembra che possa esser disciolta dai succhi digerenti di animali inferiori.

Finora abbiamo quasi esclusivamente parlato dell'azione del succo gastrico sopra le varie sostanze proteiche non genuine. Poco c'è da aggiungere sull'**azione del succo pancreatico** sopra queste sostanze. Le proteine vegetali, le nucleoalbumine e i proteidi vengono scomposti più rapidamente in modo analogo a quello or ora ricordato. Degli albuminoidi solo il collageno e l'elastina subiscono modificazioni degne d'essere ricordate.

Il **collageno** veramente non è attaccato dal succo pancreatico (EWALD e KUEHNE), se non quando sia stato prima cotto in acqua o rigonfiato da acidi diluiti, ciò che avviene appunto nello stomaco. Dev'essere per ciò riconosciuta al succo gastrico un'importanza speciale nella digestione del collageno nativo, crudo; ed essa consiste appunto nel prepararlo alla digestione pancreatica, rigonfiandolo. I cani di LUDWIG e OGATA infatti, cui era stato asportato lo stomaco, non erano in grado di digerire, di utilizzare il tessuto connettivo che loro si somministrava come alimento.

Dalla **gelatina** nascono, durante la digestione pancreatica, successivamente protogelatosi e poi deuterogelatosi; ma il gelatinpeptone non viene ulteriormente scomposto in amidoacidi dalla tripsina. La rapidità con cui ha luogo la peptonizzazione della gelatina sotto l'influenza della tripsina è tale, che essa può servire a svelare, per mezzo della sua fluidificazione, anche tracce di quell'enzima. Se infatti si prepara una soluzione asettica di gelatina, sciogliendo 5-10 gr. di gelatina solida in un soluzione bollente di timolo, filtrando a caldo e lasciando solidificare il liquido in provette, e poi si aggiunge in queste un liquido o una sostanza qualunque asettica, in cui vi sia tripsina, si vede subito che la gelatina man mano si scioglie, trasformandosi in gelatosi e in peptoni (FERMI).

L'**elastina** è direttamente sciolta dal succo pancreatico, con formazione di elastosi. Ma, come nella digestione gastrica, nemmeno qui s'è riesciti a dimostrare la formazione d'un vero elastinpeptone.

Separazione dei proteosi e peptoni. — 1. Immaginiamo prima di avere un miscuglio di prodotti della digestione cloridropeptica artificiale o naturale, ossia il liquido stesso d'una simile digestione, lasciato raffreddare e poi filtrato. Innanzi tutto lo si bollisce per 5-10 minuti: precipitano le **sostanze proteiche coagulabili**, se ancora ve ne sono non denaturate. Il filtrato è acido: neutralizzandolo cautamente precipitano le **acidoproteine**. Si satura una parte del filtrato neutro con Na Cl o con $Mg SO^4$: precipitano (non completamente) i **protoalbumosi**, gli **eteroalbumosi** e i **disalbumosi**; il precipitato può esser la-

vato sul filtro con soluzioni sature di quei sali, e ridisciolto in soluzione 10 % di $NaCl$; se si ottiene un residuo insolubile, esso è disalbumoso. La soluzione di proto- ed eteroalbumosi è dializzata: precipitano gli eteroalbumosi, mentre rimangono sciolti i protoalbumosi (con questo mezzo possono essere separati); i protoalbumosi rimasti disciolti nel dializzatore possono essere precipitati con alcool.

Il filtrato che si ottiene dopo la precipitazione con $MgSO^4$ in sostanza è una soluzione satura di $MgSO^4$ contenente i **deuteroalbumosi**, i **peptoni** e tracce di proteosi primari (non precipitati prima): questi precipitano completamente, solo in parte precipitano i deuteroalbumosi, punto i peptoni, se vi si aggiunge dell'acido acetico saturato di $NaCl$. Più semplice è saturare con $(NH^4)^2SO^4$ il liquido liberato dalle acidoproteine, neutro: precipitano tutti i proteosi, e rimangono disciolti i soli peptoni; il precipitato può esser lavato con soluzione satura di quel sale e poi dializzato, per poi separare i vari proteosi in esso coesistenti.

2. Per preparare il peptone vero di Kuehne in quantità considerevole è meglio servirsi del liquido d'una digestione pancreatica artificiale.

a) Secondo Kuehne, si libera il liquido filtrato dalle **sostanze proteiche ancora coagulabili** e dalle **alcaliproteine** mediante neutralizzazione e conveniente bollitura. Si diluisce sufficientemente il filtrato quasi neutro, e lo si satura alla temperatura d'ebollizione con $(NH^4)^2SO^4$; si lascia raffreddare; si filtra per allontanare i **proteosi** precipitati e il sale che si è cristallizzato nel raffreddamento. (Si ripete questa operazione due o tre volte). Si bollisce il filtrato, lo si alcalinizza fortemente con NH^3 e $(NH^4)^2CO^3$, lo si satura nuovamente con $(NH^4)^2SO^4$ alla temperatura d'ebollizione (l'eccesso di NH^3 si può anche eliminare facendovi gorgogliare una corrente d'aria); poi lo si acidifica nettamente con acido acetico, e lo si filtra dopo il raffreddamento. Ora si concentra fortemente il filtrato, agitandolo, ripetutamente, e ciascuna volta lo si libera, dopo il raffreddamento, dal sale che si viene successivamente cristallizzando. Poi si elimina il resto del sale mediante una cauta precipitazione frazionata del medesimo con alcool, finchè da ultimo rimane una soluzione concentrata di peptone contenente alcool e poco sale. Si bollisce per scacciare l'alcool, si aggiunge, mentre bolle, del $BaCO^3$ per precipitare il $(NH^4)^2SO^4$, si filtra e si tratta cautamente il filtrato con H^2SO^4 diluito per eliminare l'eccesso di barite. Si filtra di nuovo; il filtrato, che non deve contenere H^2SO^4 libero, viene fortemente concentrato, e in esso viene precipitato, mediante l'aggiunta di alcool assoluto, il peptone puro, che poi è disseccato nel vuoto sull'acido solforico.

b) Secondo Balke (che ha modificato il metodo di Kuehne solo in quanto concerne l'eliminazione delle ultime tracce di solfato ammonico), si condensa il liquido, liberato dalla barite, sul bagnomaria fino a consistenza siropposa tenue, per cui si forma una sottile pellicola (durante l'evaporazione si libera NH^3 derivante da una scomposizione del sale ammonico). Si lascia raffreddare questo siroppo e lo si tratta con alcool assoluto finchè l'intorbidamento, che sempre apparisce in sul principio, non si dilegua più, agitando. Si elimina il precipitato, e si lascia cadere il liquido in alcool assoluto, mentre si agita incessantemente. Se si è raggiunta un'adeguata concentrazione della soluzione, precipita l'**antipeptone** in fiocchi nivei, che si lasciano depositare. Si decanta il liquido soprastante, si lava il precipitato prima con alcool, poi con etere, e finalmente lo si dissecca nel vuoto sull'acido solforico.

3. Per dimostrare la presenza di proteosi e di peptoni in liquidi dell'organismo o in estratti acquosi di organi e di tessuti, si può operare **secondo il metodo** di Devoto. Si eliminano le sostanze proteiche coagulabili e i proteosi bollendo il liquido con $(NH^4)^2SO^4$ fino a saturazione completa. Si lascia raffreddare; si filtra. Nel filtrato si può dimostrare con la reazione del biureto la presenza di **peptone vero** (aggiungendo un eccesso di KOH). Ora si lava con acqua il precipitato che si trova sul filtro: nel filtrato passano i proteosi, che ivi erano rimasti, precipitati dal solfato ammonico, e possono essere dimostrati anche mediante la reazione del biurete. Benchè, in questo

metodo, le sostanze proteiche durante i vari trattamenti non vengano mai in contatto di acidi, non è tuttavia certo che proteosi non si formino durante la bollitura del liquido.

Una determinazione quantitativa dei proteosi e dei peptoni non si può sperare di far seriamente per mezzo del metodo colorimetrico (prova del biurete) o polarimetrico. In tal caso, è come contentarsi di osservare una reazione colorata più o meno intensa.

Per determinare quelle sostanze in modo alquanto soddisfacente, bisogna separarle, seguendo le norme sopra indicate, e pesarle secche. Ma anche nel disseccamento bisogna contentarsi d'un limite approssimativo, poichè, come abbiamo detto sopra, non si riesce mai ad ottenere proteosi e peptoni secchi di peso costante.

3. — *ULTERIORI MODIFICAZIONI CHE SUBISCONO LE SOSTANZE PROTEICHE SOTTO L'AZIONE DELLA TRIPSINA E DELLA PUTREFAZIONE INTESTINALE.*

§ 93. **Generalità.** – Abbiamo qua e là accennato a diverse sostanze che si formano durante la scomposizione idrolitica dei corpi proteici contemporaneamente ai proteosi e ai peptoni; e se diamo uno sguardo ai paragrafi dove abbiamo trattato della scomposizione artificiale, per mezzo di reattivi chimici e fisici più o meno violenti, dei corpi proteici (pag. 204 e segg.), troviamo che le sostanze che dovremo studiare in questa sezione si presentano anche come prodotti della scissione artificiale dei medesimi. Noi possiamo dunque riprodurre *in vitro* anche questa parte della disintegrazione enzimatica dei proteici. Lo stesso si può dire dei prodotti della putrefazione intestinale, i quali sono dovuti ad azioni batteriche, e che studieremo in seguito.

Di comune queste sostanze hanno fra loro: il formarsi in assenza di O, come prodotti di scissione semplice, non ossidativa, sia per l'azione di enzimi, sia per l'azione di microrganismi della putrefazione, e il costituire, nel loro insieme, dei materiali che possono considerarsi come perduti per l'organismo animale in cui si formano, essendo termini ultimi della scomposizione degli alimenti, destinati ad essere eliminati dal tubo digerente, che in condizioni normali non li assorbe. Essi rappresentano, in altre parole, quella parte del nutrimento azotato che l'organismo non può utilizzare, sia per la labilità stessa di alcuni gruppi dei corpi proteici (**emigruppi**), sia per la presenza e l'attività più o meno grandi dell'enzima triptico e dei microrganismi della putrefazione. Quei materiali posseggono, però, poca energia tensiva, relativamente a quella dei corpi donde derivano, e hanno, in generale, proprietà tossiche, onde la loro espulsione, formati che siano, si può considerare come utile per l'organismo.

Alcune di queste sostanze compariscono anche nei vari organi e tessuti del corpo, in quantità più o meno grande, ma sempre im-

mensamente inferiore a quella con cui si formano nel tubo digerente, e derivano, forse, in parte dal metabolismo locale degli elementi cellulari, e in parte da assorbimento di quelle che si formano nell'intestino, senza escludere che la presenza di enzimi proteolitici in alcuni organi e tessuti possa anche contribuire a spiegare in parte la loro formazione *in situ*.

Nella seguente tabella si vedono a colpo d'occhio le sostanze cui finora abbiamo accennato.

Tabella quarantunesima.

Prodotti dell'azione triptica				Prodotti dell'azione batterica		
Derivati degli acidi grassi	Basi	Sostanze organiche di costituz. ignota	Corpi aromatici	Corpi della serie grassa	Corpi della serie aromatica	Prodotti terminali
Acido amidocapronico. **(Leucina)** Acido amidovalerianico. **(Butalanina)** Acido amidosuccinico **(Acido aspartico)** Acido amidopirotartarico. (Ac. glutaminico) Acido diamidacetico (?).	Lisina. Lisatinina. Arginina. NH^3	Triptofano.	Acido paraossifenilamidopropionico. **(Tirosina).**	Amidoacidi. Acidi grassi. Metilmercaptano *(Tetra- e pentametilendiamina).*	Indolo. Scatolo. (Acido scatolcarbonico). Tirosina. Fenolo. Paracresolo. (Acidi: ossifenilpropionico, ossifenilacetico, fenilpropionico, fenilacetico).	CO^2 H^2O NH^3 H^2 H^2S Nitriti.

Come si vede in questa tabella, le azioni batteriche portano la scomposizione delle sostanze proteiche a un grado ancora più avanzato che non faccia l'azione (già per sè stessa potente e senza dubbio superiore a quella della pepsina) dell'enzima triptico. Molte sostanze appariscono tanto nell'uno quanto nell'altro processo; ma dei corpi aromatici solo la tirosina apparisce durante la digestione triptica, mentre sono molti quelli che si formano durante la putrefazione, la quale sola è capace di dar origine ai prodotti più semplici terminali (CO^2, H^2O, ecc.). Tuttavia non bisogna dimenticare che mentre la digestione triptica rappresenta il processo normale proteolitico in tutti gli animali superiori, la vera azione dei batteri, utile specialmente agli erbivori per la digestione del celluloso, negli altri animali non si esplica, in condizioni normali, che nel colon, quando già una gran parte dei materiali digeriti sono stati assorbiti; e che alcune delle sostanze indicate nella tabella (quelle chiuse fra parentesi), in condizioni normali, non appariscono.

§ 94. **Gli amidoacidi.** — La **leucina** ($C^6 H^{13} NO^2$) si può presentare sotto due forme: o come

$$\begin{matrix} CH^3 \\ CH^3 \end{matrix}\!\!> CH . CH^2 . \overset{(\alpha)}{CH}(NH^2) . COOH \text{ (acido } \alpha\text{-amidoisobutilacetico)},$$

ovvero come

$$CH^3 . CH^2 . CH^2 . CH^2 . \overset{(\alpha)}{CH}(NH^2) . COOH \text{ (acido } \alpha\text{-amidocapronico)};$$

si hanno cioè due leucine (almeno).

Si forma e si trova, oltre che nelle condizioni sopra dette, anche nel pancreas e nel succo pancreatico, nella milza, nel timo, nei gangli linfatici, nella tiroide, glandole salivari, reni, testicoli, polmoni, fegato, sembra, come costituente normale (Radziejewski, Treskin, Cloetta). Si trova anche in alcune parti vegetali, e abbonda in casi patologici.

È una sostanza bianca nivea splendente, fine e leggiera, composta di foglietti cristallini birefrangenti o untuosi aggruppati in masse sferoidi ialine, che galleggiano sull'acqua, dalla quale non sono bagnati. Fonde a 170° C e si sublima senza scomporsi dando un odore di amilamina. Da soluzioni impure cristallizza in croste di sfere e zolle mostranti una striatura radiale e strati concentrici o una struttura fogliettata a raggi. Ha una densità $= 1,293$. La leucina pura si scioglie difficilmente in 29-46 parti di H^2O e in 1040 parti di alcool 98 % alla temperatura ordinaria; impura, si scioglie facilmente in acqua e discretamente in alcool, benissimo in alcali ed acidi. Bruciata, dà CO^2, NH^3 e amilamina. Scaldata con alcali e nella putrefazione, dà acido valerianico e NH^3.

La leucina comune è destrogira [$(\alpha) D = + 17,54°$] in soluzione cloridrica 10 %; ma quella ottenuta per sintesi (Huefner, Limpricht) dall'azione dell'acido cianidrico 1 p. sull'isovaleraldeidammoniaca 2 p.

$$\left(C^4 H^9 CH \begin{matrix} \diagup OH \\ \diagdown NH^3 \end{matrix} \right)$$

in presenza di HCl diluito [si forma prima un corpo $C^{18} H^{33} N^5$, che poi si scinde nel seguente modo:

$$C^{18} H^{33} N^5 + 6 H^2 O + 3 (C^6 H^{13} NO^2) + 2 NH^3],$$

è inattiva sulla luce polarizzata, come quella che si ottiene decomponendo l'albumina con barite a 160° C; però il *Penicillum glaucum* ha la proprietà di trasformare la leucina inattiva in una leucina levogira [$(\alpha) D = - 17,5°$, in soluzione acida]. In soluzione alcalina 10 % la leucina ottenuta dalla caseina ha un potere rotatore $(\alpha) D + 6,65.°$

La leucina si combina con H^2SO^4, HNO^3 e HCl ($C^6H^{13}NO^2 . HCl$). Sciolta in acqua, non è precipitata dai sali metallici; dalla soluzione bollente è però precipitata da una soluzione anche bollente di acetato di rame, in forma di cristalli splendenti blu di cuproleucina ($7\,C^6H^{13}NO^2 + 4\,CuO$); ma se la stessa soluzione è trattata con idrato d'ossido di rame di recente precipitato, questo vi rimane sciolto, sebbene non ridotto, e forma con la leucina un'altra combinazione [$Cu(C^6H^{13}NO^2)_2$], che può ottenersi cristallizzata in tavolette rombiche blu chiare. La soluzione di leucina bollente trattata con acetato di piombo e poi lasciata raffreddare, per l'aggiunta di NH^3, dà luogo alla formazione di laminette cristalline splendenti di ossido di piombo e leucina. Se si scioglie la leucina in HNO^3 e vi si fa agire dell'HNO^2, tutto l'N si svolge in forma gasosa, formandosi **acido leucinico** (o ossicapronico) e H^2O:

$$C^6H^{11}(NH^2)O^2 + HNO^2 = \underbrace{C^6H^{11}(OH)O^2}_{\text{(ac. leucinico)}} + N^2 + H^2O$$

Questa reazione è comune a tutti gli amidoacidi.

L'acido leucinico sta alla leucina, come l'acido glicolico e l'acido lattico rispettivamente stanno alla glicocolla e all'alanina:

$$\underbrace{C^5H^{10}(NH^2).CO.OH}_{\text{(leucina)}} : \underbrace{C^5H^{10}(OH).CO.OH}_{\text{(ac. leucinico)}}$$

$$\underbrace{CH^2(NH^2).CO.OH}_{\text{(glicocolla)}} : \underbrace{CH^2(OH).CO.OH}_{\text{(ac. glicolico)}}$$

$$\underbrace{C^2H^4(NH^2).CO.OH}_{\text{(alanina)}} : \underbrace{C^2H^4(OH).CO.OH}_{\text{(ac. lattico)}}$$

Trattata con $Ba(OH)^2$, si scinde nella corrispondente base alcoolica e CO^2. Anche questa reazione è comune a tutti gli amidoacidi; così, p. e.:

$$\underbrace{CH^2(NH^2).COOH}_{\text{(glicocolla)}} = \underbrace{CH^3(NH^2)}_{\text{(metilamina)}} + CO^2.$$

La leucina, come gli altri amidoacidi, per il gruppo carbossilico, acido, e per l'amidogruppo, basico, ha rispettivamente caratteri acidi e basici, potendo formare combinazioni con basi e con acidi.

Prova di SCHERER. — La leucina evaporata cautamente con HNO^3 su una lamina di platino lascia un residuo quasi incoloro. il quale scaldato con poche gocce di NaOH si colora in giallo bruno, e scaldato ulteriormente sulla fiamma si trasforma in una goccia d'aspetto oleoso, che scivola sul platino, senza bagnarlo. Del resto la leucina si può riconoscere al microscopio per la forma stratificata e raggiata delle sue sferule, e per l'odore di amilamina che emana quando la si sublima scaldandola a secco in una provetta.

L'**acido amidovalerianico** ($C^5 H^{11} NO^2$) o $CH^2 (NH^2) . CH^2 . CH^2 . CH^2 . COOH$ fu trovato nel pancreas accanto alla leucina, dalla quale si distingue perchè è più solubile in acqua e otticamente inattivo. Si presenta in forma di foglietti splendenti o d'aghi aggruppati in stellette, è quasi insolubile in alcool ed etere, dà con gli acidi combinazioni cristalline caratteristiche, fonde a 157-158° C scindendosi in $H^2 O$ e piperidina.

L'**acido amidosuccinico** (o **aspartico**):

$$C^4 H^7 NO^4 \text{ ovvero } COOH . CH (NO^2) . CH^2 . COOH$$

abbonda nel regno vegetale in forma di asparagina (amide dell'acido aspartico) e risulta dalla scomposizione delle sostanze proteiche nella proporzione di 23,8 parti su 100 di ovalbulina secca (Hlasiwetz e Habermann), ed alla digestione triptica. Apparisce in croste cristalline, solubili in acqua, che con il $Cu (OH)^2$ formano combinazioni aghiformi blu chiare ($C^4 H^5 Cu NO^4 . 4 \frac{1}{2} H^2 O$), donde si può ottenere la sostanza pura sciogliendo le dette combinazioni in $H Cl$ e allontanando il Cu con $H^2 S$. L'acido aspartico puro è in forma di foglietti cristallini perlacei o di prismi rombici, fissa 23,02 % di Cu, è solubile in 256 p. di acqua a 10° C. e in 18,6 p. d'acqua bollente, insolubile in alcool. Le sue soluzioni acquose sono levogire, le acide ($H N O^3$) destrogire

$$[(\alpha) D = + 25,16^0]$$

le alcaline levogire. La sostanza attiva scaldata in $H Cl$ a 170-180° C diventa inattiva.

L'**acido glutamico** ($C^5 H^9 NO^4$) o **amidopirotartrico**:

$$COOH . C^3 H^5 (NH^2) . COOH,$$

deriva più facilmente da proteici vegetali, ma è stato anche ottenuto da proteici animali scomposti con cloruro di stagno e $H Cl$, come dalla caseina (nella proporzione del 29 %) e in piccola quantità anche dalla reticolina (Siegfried). Cristallizza in tetraedri rombici o in ottaedri, è insolubile in alcool e in etere, si scioglie difficilmente in 100 p. di acqna a 16° C, fonde a 135-140° C, non senza scomporsi.

Le sue soluzioni acquose acide sono destrogire [$(\alpha) D = + 31,1^0$ in soluzione cloridrica 5 %]. Scaldato a 150°-160° C si trasforma in una sostanza inattiva, che il *Penicillum glaucum* fa diventare levogira [$(\alpha) D = - 31,1^0$].

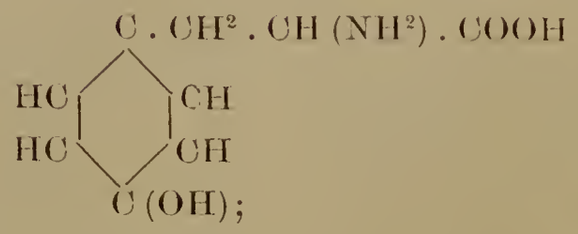
Esiste una combinazione ($C^5 H^7 Cu NO^4 + 2 \frac{1}{2} H^2 O$) col Cu, che cristallizza in prismi blu con superfici piramidali e si scioglie in 3400 parti d'acqua fredda e 400 p. d'acqua bollente.

§ 95. La **Tirosina** ($C^9 H^{11} NO^3$) o **acido paraossifenil-α-amidopropionico**:

$$C^6 H^4 \begin{cases} OHp \\ CH^2 . CH (NH^2) . COOH, \end{cases}$$

si forma dalle sostanze proteiche (non dalla colla) nelle medesime condizioni della leucina, con cui si trova anche nel cacio vecchio (τυρός, onde il nome); ma, contrariamente alla leucina, pare che non si trovi mai negli organi e tessuti degli animali superiori in condizioni normali (nel pancreas si trova per effetto d'autodigestione), mentre è un costituente comune di molti invertebrati (specialmente artropodi, e nel *Coccus cacti*, ecc.). La quantità di tirosina che si ottiene dalle varie sostanze proteiche è quasi sempre inferiore a quella della leucina (ved. pag. 205).

La tirosina è un composto della serie aromatica, la cui formola di costituzione è:



essa può subire una serie di scomposizioni nell'intestino o fuori, sotto l'influenza della putrefazione, quando l'O non è affatto assente, scomposizioni i cui prodotti sono stati tutti studiati e ritrovati poi (eccetto quelli chiusi in parentesi) anche nelle orine degli animali. Tali prodotti sono:

$$1.\ \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.CH(NH^2).COOH\end{cases}}_{\text{(tirosina)}} + H^2 = NH^3 + \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.CH^2.COOH\end{cases}}_{\text{(ac. idroparacumarico)}};$$

$$\left[\ 2.\ C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.CH^2.COOH\end{cases} = CO^2 + \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.CH^3\end{cases}}_{\text{(paraetilfenolo)}};\ \right]$$

$$3.\ C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.CH^3\end{cases} + O^2 = H^2O + \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.COOH\end{cases}}_{\text{(ac. paraossifenilacetico)}};$$

$$4.\ C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.COOH\end{cases} = CO^2 + \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^2.\end{cases}}_{\text{(paracreosolo)}};$$

$$\left[\ 5.\ C^6H^4\begin{cases}OH\\CH^3\end{cases} + O^3 = H^2O + \underbrace{C^6H^4\begin{cases}OH\\COOH\end{cases}}_{\text{(ac. paraossibenzoico)}};\ \right]$$

$$6.\ C^6H^4\begin{cases}OH\\COOH\end{cases} = CO^2 + \underbrace{C^6H^5.OH}_{\text{(fenolo)}}.$$

La tirosina pura si presenta in aghi fini, incolori, aggruppati in fasci o covoni; impura, anche in forma di zolle che possono essere scambiate con la leucina. Si scioglie in 1900 p. d'acqua alla temperatura ordinaria e in 150 p. di acqua bollente, donde precipita col raffreddamento; è insolubile in alcool ed etere, facilmente solubile in NH^3, donde si deposita in cristalli evaporando l'NH^3, in alcali e carbonati alcalini, in acidi minerali con cui si combina, pochissimo solubile in acido acetico. Il cloridrato di tirosina ($C^9H^{11}NO^3.HCl + 2H^2O$) è solubile in alcool assoluto, ma si scompone in H^2O; esistono anche il nitrato e il solfato.

La tirosina si combina anche col Na, col Ca, col Ba, con l'Ag e col Hg; col Cu forma un composto che cristallizza in fini aghi splendenti blu cupi, solubili in 1250 p. d'acqua fredda e in 240 p. d'acqua bollente, insolubili in alcool ed etere, la cui costituzione è

$$(C^9 H^{10} NO^3)^2 Cu.$$

Reazioni della tirosina. — 1. **Reazione di** PIRIA. — Si scioglie la tirosina in H^2SO^4 scaldandola in un vetro d'orologio a 50° C sul bagnomaria; si lascia raffreddare, si diluisce il liquido con poca acqua, lo si neutralizza con $BaCO^3$ e si filtra. Il filtrato dà, aggiungendo soluzione diluita non acida di cloruro di ferro, un bel colore violetto, che sparisce con un eccesso di questo sale. La reazione è disturbata dalla presenza di acidi minerali liberi e di grandi quantità di leucina; essa è dovuta alla formazione di **acido tirosinsolforico.**

2. **Prova di** HOFFMANN. — In una provetta si aggiunge a una piccola quantità di tirosina un po' d'H^2O e poche gocce di reattivo di MILLON, e si fa bollire: il liquido si colora in rosso e si forma un precipitato rosso. La reazione avviene anche adoperando, invece del reattivo di MILLON, nitrato di mercurio e acido nitriconitroso; essa è dovuta alle combinazioni che la tirosina forma col Hg, le quali scaldate con HNO^2 diventano rosse.

3. **Prova di** SCHERER. — In una capsulina di platino si aggiunge alla tirosina 1 p. di HNO^3 e 1 p. d'acqua, e si evapora sino a secchezza; rimane un residuo giallastro di nitrato di nitrotirosina

$$[C^9 H^{10} (NO^2) NO^3 . HNO^3],$$

la quale trattata con NaOH dà un bel color giallo, che poi si cangia in giallo-rosso cupo. Questa reazione però è comune ad altre sostanze. La tirosina fu preparata dalla paraamidofenilalanina sottoposta all'azione di NHO^2. Fusa con alcali caustici dà acido paraossibenzoico, acetico e NH^3; nella putrefazione dà, come abbiamo visto, acido paraidrocumarico, ossifenilacetico e paracresolo.

§ 96. **Preparazione della leucina e della tirosina e loro separazione. Preparazione degli altri amidoacidi.**

1. **Per scomposizione artificiale.** — 1000 gr. di raschiatura di corno sono bolliti per 24 ore in un miscuglio di 2500 gr. di H^2SO^4 e 6500 gr. d'acqua, sostituendo sempre l'H^2O che si evapora; quindi s'aggiunge latte di calce tenue, agitando, fino a reazione alcalina; si filtra, si bollisce in acqua il residuo, di nuovo si filtra e si lava il residuo. Ai filtrati e ai liquidi di lavaggio uniti insieme e caldi si aggiunge acido ossalico fino a reazione acida, si filtra, si concentra il filtrato finchè si formi una pellicola cristallina alla sua superficie e si lascia raffreddare. Si filtra di nuovo e si evapora il filtrato, ottenendo una seconda cristallizzazione. Si ripete l'operazione finchè dalle acque madri non si depositano più cristalli. Si sciolgono ora le masse cristalline riunite in acqua calda, aggiungendovi un po' di NH^3, e si tratta la soluzione, agitando, con acetato di piombo, finchè il precipitato che si forma

apparisca bianco; si filtra, si acidifica il filtrato caldo con H^2SO^4 diluito, si elimina il solfato di piombo filtrando, e si lascia raffreddare il liquido, donde si separa la **tirosina** in cristalli. Dall'acqua madre si elimina il Pb con H^2S, si filtra, si concentra il filtrato e lo si bollisce per circa 2 minuti con $Cu(OH)^2$ di recente precipitato: si forma una soluzione blu oscura, che vien filtrata e concentrata e dalla quale col raffreddamento si deposita un composto di leucina e Cu O insolubile avente la composizione $Cu(C^6H^{10}NH^2O^2)_2$. Si scompone il precipitato in acqua calda con H^2S, si filtra per eliminare il Cu S, si scolora il filtrato con carbone animale, se è necessario, e lo si concentra: si separa la **leucina**, che si può purificare ricristallizzandola dall'alcool bollente.

(Tirosina e leucina si possono anche ottenere: scaldando le sostanze proteiche originali a 100-250° C. con $Ba(OH)^2$, ovvero bollendole con cloruro di stagno e H Cl in assenza di O, o scaldandole con acqua dl Br in tubi chiusi, o facendovi agire l'H J diluito, o bollendole o fondendole con alcali caustici).

2. **Per digestione triptica.** — Si parte da un ordinario liquido di digestione triptica di fibrina cotta (ved. in seguito: PANCREAS ecc.). Si acidifica con acido acetico il filtrato chiaro, e lo si bollisce. Si filtra, e si concentra il filtrato fin quasi a consistenza siropposa, e lo si lascia raffreddare. Dopo 24 ore s'è depositata una considerevole quantità di cristalli di leucina e di tirosina. Si filtra, e si concentra ulteriormente il filtrato, che vien poi trattato con alcool assoluto, finchè cominci ad apparire un precipitato di antipeptone. Si scalda la soluzione alcoolica, finchè il peptone si sia ridisciolto, e si lascia raffreddare. Si ottiene una nuova cristallizzazione di leucina e tirosina; si filtra, e si lava il precipitato cristallino con soluzione satura di $(NH^4)^2SO^4$.

Per **separare**, ora, la leucina dalla tirosina si utilizza la proprietà della prima di essere più solubile della seconda in acqua e in alcool. Si bolliscono le masse cristalline riunite in alcool: si scioglie la leucina, che poi cristallizza dalla soluzione alcoolica concentrata e raffreddata. Il residuo cristallino di tirosina pura viene sciolto in NH^3 diluita; si lascia evaporare la soluzione alla temperatura ordinaria, e si raccoglie la tirosina che così si è precipitata.

3. **Dagli organi glandolari.** — Questi vengono finemente tritati e digeriti con acqua fredda, spesso agitando. Si fa passare il liquido attraverso un panno; si digerisce di nuovo il residuo, e si mescolano insieme i filtrati e i liquidi di lavaggio. Questi vengono acidificati con acido acetico e bolliti. Si raffredda, si filtra; si aggiunge al filtrato una soluzione di acetato di Pb, si filtra; si tratta il filtrato con H^2S, si filtra; si concentra il filtrato fino a consistenza siropposa, e lo si lasca raffreddare, per cui precipita la leucina, che poi si purifica.

4. **L'acido aspartico** trovasi nelle acque madri, donde cristallizzarono la leucina e la tirosina. Si concentrano queste acque e le si trattano con poco alcool. Dopo poco, si deposita l'acido in croste cristalline, che vengono asciugate e sciolte in acqua; la soluzione vien trattata bollente con $Cu(OH)^2$ fresco, e poi filtrata. Da questa soluzione blu si deposita il composto $C^4H^5CuNO^4$ in aghi blu chiari. Si sciolgono questi in H Cl, si elimina il Cu con H^2S, e si lascia cristallizzare l'**acido aspartico puro**.

L'**acido glutamico** si separa trattando l'acqua madre in cui si trova con una corrente di H Cl gasoso a 0° C., e lasciando il liquido per alcune ore in un miscuglio frigorifero. Il cloridrato dell'acido cristallizza in grosse tavole e prismi triclini, insolubili in H Cl, solubili in acqua. Si tratta la soluzione acquosa con ossido d'Ag di fresco precipitato; si filtra; si tratta il filtrato con H^2S, si filtra, si decolora e concentra il filtrato, e lo si lascia per alcuni giorni a cristallizzare in un miscuglio frigorifero.

§ 97. **Le basi. Generalità.** — DRECHSEL osservò che nelle scomposizioni di sostanze proteiche, fatte specialmente da SCHUETZENBERGER con $Ba(OH)^2$ e da HLASIWETZ e HABERMANN con cloruro di stagno e H Cl, circa il 30 % in peso della sostanza adoperata non

compariva nei prodotti di scomposizione da quegli autori isolati e descritti (leucina, tirosina, ac. glutamico, aspartico, NH^3, altri amidoacidi, ecc.). Inoltre le acque madri, donde erano state cristallizzate le dette sostanze, erano state prese assai poco in considerazione e, in special modo, fra quelle sostanze non erano comprese, o quasi, basi organiche. A queste rivolse DRECHSEL in modo particolare la sua attenzione, e con metodi perfezionati egli e i suoi discepoli (E. FISCHER, M. SIEGFRIED, S. G. HEDIN, R. KRUEGER) giunsero alla scoperta di quel gruppo di sostanze che ora ci accingiamo a studiare brevemente.

La **lisina** ($C^6 H^{14} N^2 O^2$) è un **acido diamidocapronico**:

$$C^5 H^9 (NH^2)_2 COOH,$$

omologo all'acido diamidovalerianico trovato da JAFFÉ nell'ornitina; è una sostanza ancora amorfa, ma destrogira, che però scaldata a 150° C diventa inattiva, che forma con l'HCl due cloridrati e il cui cloroplatinato incristallizzabile ha la formola ($C^6 H^{14} N^2 O^2 . H^2 Pt Cl^6$.

Per dimostrare la presenza della lisina e separarla da altre sostanze, bisogna trasformarla in **acido lisurico (dibenzoillisina)**, poi precipitare questo dalle sue soluzioni alcaline calde con HCl in forma di un olio denso, viscoso, che col raffreddamento diviene quasi solido, lavare il precipitato, scioglierlo in acqua calda mediante l'aggiunta di un po' di NaOH, e precipitare a caldo con $BaCl^2$. Aggiungendo nel filtrato HCl a gocce, sempre a caldo, si forma un abbondante precipitato cristallino di lisurato acido di bario:

$$2 [C^6 H^{12} N^2 (C^7 H^5 O)^2 O^2 + C^6 H^{11} N^2 (C^7 H^5 O)^2 O^2] Ba + 2 H^2 O.$$

Questo caratteristico sale di Ba (Ba = 8,83 %) può essere trasformato in sale di Na bollendo con $Na^2 CO^3$, donde si può isolare l'acido lisurico con HCl, e purificarlo sciogliendolo in alcool e precipitandolo con acqua.

L'acido lisurico cristallizza in piccoli foglietti splendenti, insolubili in acqua e in etere, solubili in alcool. Scaldato con un miscuglio di volumi eguali di HCl e d'alcool in tubo chiuso a 140°-150° C, si scinde in acido benzoico e lisina, che così si ottiene pura in forma di cloridrato. La formola dell'acido lisurico è $C^6 H^{12} N^2 (C^7 H^5 O)_2 O^2$. ed è omologa a quella dell'acido orniturico di JAFFÈ:

$$C^5 H^{10} N^2 (C^7 H^5 O)^2 O^2.$$

La **lisatinina** ($C^6 H^{11} N^3 O$) o **lisatina** è una base che rimane nelle acque madri dopo la separazione della lisina, ed ha una grandissima importanza, perchè **nella sua scomposizione si forma direttamente urea**, la cui derivazione dalle sostanze proteiche rimane così alquanto chiarita. Secondo che si computa o no 1 mol. d'$H^2 O$ di cristallizzazione, si distinguono in vero due sostanze: $C^6 H^{13} N^3 O^2$ (lisatina) o

$C^6 H^{11} N^3 O$ (lisatinina), le quali corrispondono alla composizione grezza della creatina e della creatinina. Si noti che DRECHSEL ottenne questa sostanza non per processi ossidativi, ma come prodotto di scissione idrolitica delle sostanze proteiche. La detta sostanza (in forma di sale doppio argentico) sciolta in acqua, liberata dall'Ag mediante l'aggiunta di $BaCl^2$, e bollita per 25 minuti con un eccesso di $Ba(OH)^2$, dà nitrato d'urea (nella proporzione di 1 gr. a 10 gr.). DRECHSEL **riescì in tal modo a dimostrare con sicurezza che per scissione idrolitica, senza ossidazione, dalle sostanze proteiche nasce direttamente urea, ciò che non esclude che questa possa formarsi anche per altre vie.** Ma la lisatina è anche una sorgente di CO^2, poichè trattata con $Ba(OH)^2$ a 150°-160° C. dà $BaCO^3$.

Da calcoli fondati su dati analitici (che cioè 1 mol. di lisatina dà 1 mol. di urea, e questa 1 mol. di CO^2) risulterebbe che 100 parti di albumina, scomponendosi senza ossidazioni nell'organismo, darebbero per questa via 5,8 p. di urea; e poichè 100 p. di albumina ($N = 16\ \%$ in media) possono dare 34,3 p. di urea, risulta che solo $^1/_9$ della quantità totale di urea eliminata si formerebbe per semplice scissione della molecola proteica.

Ora queste basi sono state trovate da DRECHSEL, FISCHER, SIEGFRIED durante la scomposizione artificiale della caseina, della gelatina, dal conglutine, ecc. Ma HEDIN è riescito a rintracciarle anche nei prodotti della digestione triptica dell'emipeptone: così che non v'ha più dubbio che il processo artificiale corrisponde al naturale.

Preparazione e separazione della lisina e della lisatinina. — 1. **Metodo di** DRECHSEL. — Si prepara della caseina pura, secondo il metodo di HAMMARSTEN, e la si scompone con pezzi compatti di cloruro di stagno e HCl in vasi chiusi da Hg. Dopo 72 ore il prodotto della scomposizione viene diluito e liberato dallo stagno con H^2S. Si concentra sino al volume primitivo, e si tratta il liquido caldo con una soluzione satura calda di acido fosfovolframico cristallino. Il precipitato contiene tutte le basi, mentre gli amidoacidi passano nel filtrato. Si lava il precipitato con H^2SO^4 5 % e con H^2O contenente una quantità eguale di acidofosfovolframico, lo si sospende in acqua e lo si scompone mediante la cauta aggiunta di acqua di barite. Si bollisce il liquido per eliminare l'NH^3, si filtra, si elimina la $Ba(OH)^2$ dal filtrato con H^2SO^4, si soprasatura il nuovo filtrato con HCl e lo si concentra a bagnomaria. Rimane un siroppo denso donde, sull'H^2SO^4, successivamente cristallizza il cloridrato di lisina, mentre nell'acqua madre rimane il cloridrato di lisatinina.

Ma si può anche sciogliere il siroppo in alcool 50 % e trattare con soluzione alcoolica di cloruro di platino, che precipita un cloroplatinato di lisina ($C^6H^{14}N^2O^2 . H^2PtCl^6 + C^2H^5 . OH$) in prismi giallo-rossi, mentre nell'acqua madre rimane il cloroplatinato di lisatinina. Si allontana poi il Pt con H^2S, e si ottiene un cloridrato cristallino, dal quale, bollito con $Pb(OH)^2$ precipitato di recente, si libera la lisina amorfa.

Ora si diluiscono le acque madri e si distilla nel vuoto l'alcool e l'etere: dal residuo acquoso si elimina il Pt con H^2S, si evapora il filtrato sul bagnomaria per allontanare l'eccesso di HCl, si diluisce il nuovo residuo siroppo con acqua e lo si libera mediante $AgNO^3$ dal Cl. Il filtrato e i liquidi di lavaggio si concentrano di nuovo e vi s'aggiunge una quantità di $AgNO^3$

eguale a quella adoperata per precipitare il Cl. Se ora si aggiunge al miscuglio 5-6 vol. di alcool e un po' d'etere, apparisce un intorbidamento, che col tempo si depone in forma di un olio denso al fondo. L'acqua madre limpida vien trattata con piccole quantità di etere, successivamente, finchè si nota una separazione di cristalli sulle pareti del vaso. Ora, se si aggiunge un eccesso di etere e si abbandona il liquido in un luogo fresco, il giorno dopo si trovano fini aghi nivei e fiocchi, che si possono poi purificare, di lisatinina.

2. **Metodo di** Siegfried. — Secondo Siegfried, si può ottenere direttamente la lisina e lisatinina dal precipitato con l'acido fosfovolframico, sciogliendolo in acqua calda o scomponendolo con un leggero eccesso di $Ba(OH)^2$, saturando il filtrato con $C\ )^2$, bollendo per mezz'ora, filtrando e aggiungendo al filtrato freddo $Ag\,NO^3$ finchè non si ottenga più precipitazione. Il voluminoso precipitato vien lavato con acqua. Il filtrato vien concentrato a consistenza siropposa; quindi vi si aggiungono successivamente piccole quantità di alcool assoluto, per cui si forma un precipitato che contiene la lisina; dall'acqua madre mediante ulteriore aggiunta di alcool precipita poi il sale doppio di lisatinina.

Una base che non si trova nei prodotti della digestione triptica è l'**arginina** ottenuta da Schultze e Steiger dagli embrioni di lupini e di zucca. Essa è una sostanza, la cui costituzione non è ancora ben definita, avente la formola empirica $C^6 H^{14} N^4 O^2$, ma che, scomposta con $Ba(OH)^2$, dà anche urea. Forma col $Ag\,NO^3$ un composto ($Ag\,NO^3 + C^6 H^{14} N^4 O^2 + {}^1/_2 H^2 O$) che cristallizza in bei prismi, con l'$H\,NO^3$ un nitrato ($C^6 H^{14} N^4 O^2 . H\,NO^3 + {}^1/_2 H^2 O$) solubile a 16° C in due p. d'acqua cui conferisce reazione acida e che è destrogiro, con l'$H\,Cl$ un cloridrato ($C^6 H^{14} N^4 O^2 . H\,Cl + H^2 O$) solubile in acqua e cristallizzante in forme simili a romboedri. Questa sostanza è stata recentemente trovata da Hedin anche nei prodotti di scomposizione delle sostanze proteiche animali nella seguente proporzione:

dalle sostanze cornee	almeno	2,25	%
dalla gelatina	»	2,6	»
dal conglutine	»	2,75	»
dall'albumina del tuorlo d'uovo	»	2,3	»
dall'albumina del bianco d'uovo	»	0,8	»
dal siero di sangue secco . .	»	0,7	»
dalla caseina	»	0,25	»

Finalmente, in qualsiasi modo le sostanze proteiche vengano scomposte, si forma sempre dell'**ammoniaca** dall'N labilmente combinato di esse. La quantità di NH^3 che si libera varia a seconda delle diverse sostanze proteiche; così, p. e., l'ovalbumina ne dà il doppio della gelatina; ciò che indica una differente proporzione dell'N labilmente combinato (analogamente allo S) nelle diverse sostanze proteiche. L'NH^3 può essere così un prodotto primario della scissione della molecola proteica, e in tal caso probabilmente deriva da complessi atomici, in cui un OH del gruppo COOH sia sostituito da un NH^2,

o da quelli in cui il NH^2 è direttamente legato al CO (come nell'urea). Ma può apparire anche come prodotto secondario, derivando dai NH^2 legati direttamente al C (come negli amidoacidi); ma questa scissione è più lenta e più difficile.

L'NH^3 apparisce anche fra i prodotti della digestione triptica, e abbastanza presto.

§ 98. Il **triptofano** è una sostanza cromogena che si forma sempre quando si scompone in qualsiasi maniera la molecola proteica, e sulla cui costituzione non si sa molto di preciso. Questa sostanza sciolta in soluzione acetica e trattata con acqua di Cl o di Br, o anche con pochissimo $CaCl^2$, dà un bel color violetto, che viene facilmente estratto dall'alcool amilico. La sua combinazione bromica si può presentare in forma di pigmento rosso-violetto la cui composizione centesimale è

C 46,74; H 3,70; N 8,51; Br 27,2; S 0,51,

e in forma di pigmento bruno avente la seguente composizione centesimale:

C 47,56; H 3,63; N 7,94; Br 20,56; S 2,2.

Il primo, allo stato di assoluta purezza, forse è privo di S (Nencki). Nei pigmenti, tanto il Cl quanto il Br formano parti integranti della sostanza.

È poco solubile in alcool assoluto, etere, cloroformio; si scioglie in alcool amilico; è difficilmente solubile in acqua, ma se lo si dissecca a 100° C e poi lo si tratta a lungo con alcool, diventa solubile in acqua (Neumeister). Ha un gran potere colorante.

Il pigmento rosso si scioglie facilmente in alcali fissi diluiti, ma la soluzione s'imbrunisce all'aria; in NH^3 è poco solubile; dalle soluzioni alcaline è precipitato dagli acidi. Le sue soluzioni presentano una stria d'assorbimento nel verde; ma, impallidendosi all'aria, questa sparisce. Le soluzioni del pigmento bruno assorbono tutto lo spettro.

Esiste qualche somiglianza del pigmento rosso con l'ematoporfirina e con la bilirubina, del pigmento bruno con le melanine animali. Degno di nota è inoltre il fatto che dai due triptofani fusi con KOH si sviluppano, come dall'ematina e dall'ematoporfirina, pirrolo, H^2S, metilmercaptano e scatolo. Onde Nencki crede che i triptofani possano considerarsi come le sostanze generatrici di alcuni pigmenti animali, quali quelli del gruppo dell'indigo, e forse anche dell'emoglobina. Resterebbe però a dimostrare come nella molecola del triptofano, che è priva di Fe, questo metallo vi entri.

Preparazione del triptofano. Metodo di Nencki. — Si pestano 1500 gr. di pancreas ben pulito dal grasso, vi si versano su 3000 cmc. di H^2O e 15-20 cmc.

di cloroformio, si agita, e si lascia il miscuglio per tre giorni alla temperatura della stanza, agitandolo di quando in quando. Si passa a traverso un panno, si bolle, si filtra, e, dopo il raffreddamento, si precipita con soluzione acquosa 6 % di $Hg\,Cl^2$. Si filtra, dal filtrato si elimina il Hg con H^2S, e il H^2S con una corrente d'aria, si neutralizza con Na^2CO^3 e poi con acetato sodico finchè al liquido rimanga una reazione debolmente acida, lo si concentra a metà nel bagnomaria. Con il raffreddamento precipita in 24 ore la tirosina in gran quantità in aghi nivei. Si filtra; nel filtrato si trova il triptofano misto con peptone, amidoacidi ed altri prodotti. Si aggiunge ora del Br, per cui si produce un precipitato violetto, che dopo alcune ore si separa per filtrazione, si lava con H^2O, si asciuga fra carta bibula e finalmente si dissecca nel vuoto sull'H^2SO^4. Per ottenerlo puro, lo si polverizza e lo si estrae con etere.

§ 99. I processi della putrefazione intestinale si svolgono principalmente, almeno in condizioni normali, nell'intestino crasso, quando cioè il contenuto intestinale è per passare allo stato di feci. L'acidità del contenuto del tenue, l'azione antisettica degli acidi biliari ecc. vi inibiscono i processi putrefattivi, ossia il rigoglioso moltiplicarsi degli agenti della putrefazione. Infatti, in condizioni normali, il contenuto del tenue non ha l'odore caratteristico del contenuto del crasso, e che dipende dalla presenza dei prodotti di putrefazione.

Per ciò, e perchè i prodotti della putrefazione intestinale sono sostanze destinate ad essere eliminate, preferiamo differirne la descrizione a quando parleremo in modo speciale delle FECI, della loro composizione e del loro esame.

4. — *ASSORBIMENTO E ASSIMILAZIONE DELLE SOSTANZE PROTEICHE.*

§ 100. Abbiamo visto che, per effetto della digestione peptica e triptica, le sostanze proteiche sono scomposte nel tubo digerente in una serie di corpi sempre più semplici nella loro composizione chimica e sempre più differenti dalle sostanze donde derivano. In condizioni normali, la scomposizione s'arresta alla formazione dell'antipeptone, per quanto riguarda i prodotti dell'antigruppo, durante la digestione triptica; ma tutti i prodotti della scomposizione dell'emigruppo, che abbiamo via via studiato, non nascono necessariamente sempre; se ciò avvenisse l'organismo patirebbe un'enorme perdita di sostanze capaci d'essere assorbite ed assimilate. Tale scomposizione ha luogo solamente in casi eccezionali, quando con una potente azione enzimatica coincide un ritardato assorbimento dei prodotti intermedi della digestione delle sostanze proteiche. In generale la formazione dei prodotti estremi della scomposizione proteica, di quelli più semplici e meno utili all'organismo, è immensamente inferiore

alla formazione dei proteosi e dei peptoni (1 gr. di leucina e 0,3 gr. di tirosina, in animali che avevano ingerito 500 gr. di carne, S. LEA).

Inoltre, noi dobbiamo pensare che l'assorbimento s'inizia relativamente presto, quando nel contenuto gastrico e intestinale si trovano insieme mescolati tutti i prodotti della proteolisi, dalle proteine non ancora denaturate e dalle acidoproteine all'antipeptone e ai prodotti di scissione dell'emigruppo; e che il processo della digestione negli animali non si svolge molto rapidamente.

Vedremo nelle pagine seguenti come si comportano queste varie sostanze relativamente alla capacità d'essere assorbite.

L'assorbimento, però, non si compie con la stessa intensità in tutti i tratti del tubo gastroenterico; ma su ciò, e sulle vie dell'assorbimento delle sostanze proteiche non possiamo fermarci a lungo, per non invadere il campo della fisiologia.

Le prime trasformazioni che i prodotti della digestione subiscono nell'attraversare le pareti del tubo digerente, e sopratutto i cangiamenti che le sostanze proteiche assorbite subiscono nell'interno delle cellule viventi costituiscono due argomenti fra i più interessanti della chimica fisiologica; ma le nostre conoscenze a questo riguardo sono presentemente assai scarse. Noi diremo qui quello che si sa sul primo, e accenneremo al secondo, riserbandoci di trattarne diffusamente nel cap. della CELLULA.

§ 101. Sembra ormai stabilito che alcune proteine non denaturate, le acidoproteine e le alcaliproteine possano essere assorbite dall'intestino, come tali (BRUECKE, VOIT e BAUER). Da anse intestinali di bue e di cane prima lavate e poi ripiene di soluzioni di miosina, di sintonina, di alcaliovalbumina, o di siero di sangue, ecc., le rispettive sostanze proteiche sono assorbite in 1-4 ore.

Lo stesso si verifica nell'intestino crasso dell'uomo, dove ogni peptonizzazione è esclusa; onde il metodo dietetico dei clisteri nutritivi. Queste sostanze proteiche così introdotte, o quelle iniettate nel sangue (eccetto alcune), sono bene utilizzate dall'organismo, poichè non si osserva albuminuria, ma un aumento dell'urea nell'orina; e un equilibrio d'azoto può essere in tal modo anche raggiunto. Ma se queste sostanze non sono eliminate, vuol dire che non possono essere considerate come estranee quando giungono nel sangue. Tuttavia non sappiamo se esse sono assimilate come tali, sebbene sembri molto probabile. La miosina iniettata diventa miosina dei muscoli? L'ovalbumina acida o alcalina può sostituire la sieralbumina?

Vi sono però delle sostanze proteiche non assimilabili direttamente: l'ovalbumina, la caseina, l'emoglobina, il glutine, iniettate nel sangue, non sono ritenute. Ed anche se introdotta per il tubo digerente in quantità eccessiva l'ovalbumina viene assorbita come

tale, pare dopo avere alterato l'epitelio intestinale, essa viene subito eliminata per i reni.

La ragione di tali differenze, e sopratutto perchè particolarmente alcune sostanze proteiche hanno bisogno d'essere trasformate per potere essere assorbite, o assimilate (quando sono iniettate nel sangue), noi non sappiamo.

Ciò posto, e tenendo presenti i risultati ottenuti dalle alimentazioni carnee di animali spancreati, pare che si possa concludere che una peptonizzazione completa delle sostanze proteiche non è assolutamente indispensabile. Il succo gastrico e il succo pancreatico servono principalmente a rendere solubili le proteine introdotte allo stato solido (proteine coagulate), e a scomporre quelle sostanze proteiche che per sè stesse non sono assorbibili (proteidi), mettendo in libertà e sciogliendo quella parte di esse che è principalmente utilizzabile (la parte proteica), mentre il nucleo prostetico o viene ulteriormente scomposto ed eliminato, o viene sciolto ed assorbito anch'esso.

Inoltre, è innegabile che i proteosi e i peptoni, per le loro proprietà fisiche e chimiche, sono assorbibili più prontamente delle sostanze proteiche genuine o appena denaturate. Se dunque la peptonizzazione non è indispensabile, è certamente utile, perchè il rapido assorbimento sottrae le sostanze proteiche all'ulteriore azione degli stessi enzimi proteolitici e alla putrefazione. Per raggiungere questo scopo, l'organismo però perde una certa quantità di enegia, poichè i proteosi e i peptoni sviluppano meno calorie di combustione delle sostanze proteiche genuine: l'energia perduta è quella che si svolge durante la scissione di esse in proteosi e peptoni.

L'assorbimento delle sostanze proteiche e dei prodotti di loro scomposizione comincia già nello stomaco, ma si compie in più larga scala nell'intestinuo tenue. Nello stomaco, la scomposizione delle sostanze proteiche introdotte non va oltre la formazione dei proteosi e dell'anfopeptone, e solo piccolissima quantità di peptone si può ottenere dal contenuto gastrico. Sono dunque le acidalbumine e i proteosi quelli che principalmente vengono assorbiti dalla parete gastrica. Nell'intestino la proteolisi procede oltre come abbiamo visto: l'assorbimento qui si esercita principalmente sui proteosi secondari e sull'antipeptone. Ma non sappiamo in quale proporzione siano assorbite le acidalbumine, i proteosi primari, i proteosi secondari e i diversi peptoni (anfopeptone, emipeptone, antipeptone).

Sul più facile assorbimento dei proteosi e dei peptoni è basato il principio dell'alimentazione degli organismi deboli e malati con proteosi e peptoni ottenuti mediante digestione artificiale. Ma, qualunque sia l'utilità di questa maniera di alimentazione, certamente in condizioni fisiologiche essa è superflua, poichè ricerche istituite allo scopo

di vedere quali differenze esistono nell'utilizzazione delle sostanze proteiche genuine e dei prodotti della loro digestione in individui sani, non hanno dato risultati positivi in favore dei secondi (HORTON-SMITH). Così anche superflua è la somministrazione degli enzimi (pepsina, tripsina), che non fanno mai difetto, nemmeno in condizioni abnormi (non eccessivamente gravi) (BUNGE). Utile può riescire solamente la somministrazione di piccole quantità di HCL; ma più per le sue proprietà antisettiche, antifermentative, che per l'aiuto ch'esso reca alla digestione gastrica.

§ 102. Una questione molto importante e ancora insoluta è questa: dove si accumulano le sostanze proteiche assorbite o iniettate direttamente nel sangue? Non potendo ammettere un'assimilazione, un'utilizzazione immediata, nè un ristagno nel sangue, che è per loro solo un veicolo, e in cui speciali meccanismi sempre in azione non permettono la presenza di sostanze estranee o di sostanze normali in quantità eccessiva, rimane la sola ipotesi possibile ch'esse si accumulino in qualche luogo provvisoriamente.

Sappiamo degli zuccheri, che s'accumulano nel fegato e in parte anche nei muscoli, dove sono trasformati in materiali di riserva: sappiamo dei grassi un analogo meccanismo di immagazzinamento: sappiamo che l'acqua sovrabbondante si deposita nei globuli rossi del sangue e forse in molti altri elementi cellulari; ma non sappiamo il destino immediato delle sostanze proteiche, che pure spariscono rapidamente dal plasma del sangue. Ciò che possiamo dire in proposito è che alcuni organi, durante la digestione delle sostanze proteiche aumentano di volume e s'iperemizzano: tali sono il tessuto adenoide della parete del tubo digerente, i gangli linfatici mesenterici, e sopratutto la milza. In quest'ultima noi abbiamo potuto riscontrare una quantità considerevole di proteosi, di gran lunga superiore a quella che si può trovare in altri organi e che forse deriva da un'autodigestione postmortale. Le connessioni vascolari della milza con lo stomaco ci fecero sospettare un diretto passaggio di proteosi dall'uno all'altra. Forse gli organi linfatici, in generale, hanno l'ufficio di accogliere e trasformare una parte almeno dei prodotti della digestione delle sostanze proteiche. Ma ulteriori ricerche sono necessarie in proposito per risolvere il difficile problema.

§ 103. L'utilità della scomposizione delle sostanze proteiche è tanto più difficile a comprendersi, in quanto che è ormai sicuramente stabilito, che i proteosi e i peptoni nella mucosa intestinale o altrove debbono subire profondi cangiamenti, e propriamente una trasformazione in proteine genuine (sieralbumina?), per poter essere assimilati dai tessuti.

Diversi fatti stanno a sostegno di questo modo di vedere.

1. Proteosi e peptoni non si trovano mai nel sangue o in altri or-

gani (eccetto la milza), nemmeno durante un'abbondante digestione di sostanze proteiche.

2. Proteosi e peptoni iniettati nel sangue, scompaiono immediatamente da questo (FANO, HOFMEISTER, NEUMEISTER), e, come corpi estranei, passano nell'orina (HOFMEISTER, NEUMEISTER). In quantità considerevole, si rivelano anzi come eminentemente tossici (SCHMIDT-MUELHEIM, FANO, SHORE, ecc.); mentre somministrati per il tubo digerente non provocano fenomeni abnormi. Per il fatto che essi abbassano notevolmente la pressione del sangue, se sono iniettati in gran quantità, possono rimanere un po' nel sangue; ma poi sempre passano nell'orina, quando la pressione arteriosa si ripristina, o passano anche nella linfa, e di qui nella parete intestinale, per esservi (trasformati?) o eliminati [nei cani (SHORE, STARLING), e nei conigli (NEUMEISTER)].

3. Si pensò che, come gli zuccheri, i proteosi e i peptoni si accumulassero nel fegato, che li trasformerebbe. Ma, in primo luogo, il sangue della vena porta di cani che avevano ricevuto nell'intestino gran quantità di peptone, non ne contiene quasi punto. SCHMIDT-MUELHEIM potè constatare che i vasi sanguigni dei villi intestinali sono in grado di assorbire e trasportare peptoni dal tubo intestinale; ma la quantità di peptone trovata nel sangue della vena porta era di gr. 0,011 %, mentre il sangue carotideo ne conteneva 0,008 %. In secondo luogo, se si fa circolare artificialmente del sangue contenente peptone a traverso il fegato fresco d'un animale, il peptone non sparisce dal liquido con cui si fa la circolazione artificiale (NEUMEISTER). Nè un risultato diverso si ottiene, iniettando anfopeptone in una vena mesenterica, dirigendolo cioè verso il fegato d'un animale vivente, ed analizzando il sangue refluo da quell'organo (NEUMEISTER).

4. Peptonuria si verifica anche se nel sangue passano quantità piccolissime di peptone, come quando si lascia svolgersi una digestione artificiale (fiocchi di fibrina impregnati di tripsina) sotto la cute d'un animale (MATTHES), o quando si praticano iniezioni sottocutanee di peptone in quantità piccolissima.

Evidentemente, dunque, **i proteosi e i peptoni non sono assimilabili, a differenza di molte sostanze proteiche genuine, degli zuccheri, ecc.**

Un'esperienza classica di G. SALVIOLI, eseguita sotto la direzione di C. LUDWIG, dimostrò che **i peptoni vengono trasformati nella parete intestinale.** In un'ansa intestinale di cane, provvista del suo mesentere, egli intratteneva una circolazione artificiale, facendo entrare il sangue per un ramo dell'arteria mesenterica e escire dalla corrispondente vena; intanto il lume dell'ansa, perfettamente lavata, era pieno d'una soluzione di peptone e legato a un'estremità. Dopo

un certo tempo, il peptone era scomparso dall'interno dell'ansa, ma non si trovava nemmeno nel sangue circolante. Durante il suo assorbimento, esso era stato dunque trasformato, evidentemente nell'attraversare le pareti dell'ansa. Il peptone, però, non scompariva se, invece d'introdurlo nell'ansa, lo si mescolava nel sangue con cui si praticava la circolazione artificiale. Ma l'A. non si curò d'indagare l'eventuale prodotto di tale trasformazione, poichè le sue esperienze erano principalmente dirette ad altro scopo. Ma basta mettere a contatto pezzi freschi di parete intestinale o gastrica con proteosi e peptoni sciolti nel sangue defibrinato dello stesso animale, e agitare il miscuglio con una corrente d'aria, per vederli in gran parte scomparire (HOFMEISTER, NEUMEISTER). Se si scalda la parete del tubo digerente a 60°, tale sua proprietà trasformatrice, però, sparisce; onde bisogna per ora ammettere ch'essa è dovuta a un'attività speciale delle sue cellule viventi integre. L'opinione di HOFMEISTER, che la trasformazione e il trasporto dei proteosi e peptoni fosse fatta dai leucociti del tessuto adenoide della mucosa intestinale e dei gangli linfatici, ha perduto quel favore che un tempo ebbe, sia perchè secondo HEIDENHAIN il numero dei leucociti sarebbe insufficiente a ciò, sia perchè dalle esperienze di SHORE risulta che il peptone iniettato in un linfatico periferico riapparisce immodificato nella linfa del dotto toracico; sebbene quest'ultimo fatto dimostri solamente che non tutte le formazioni linfatiche sono capaci di compiere la funzione supposta da HOFMEISTER. L'obiezione di NEUMEISTER, che le sostanze proteiche non sono assorbite per i linfatici, sembrò recentemente aver perduto il suo valore, dopo le ricerche di ASHER e BARBERA, i quali avrebbero trovato che per le vie linfatiche viene assorbita una quantità considerevole di sostanze proteiche; ma una critica degli stessi loro dati analitici (troppo scarsi), fatta da MUNK, ha messo facilmente in evidenza gli errori in cui i detti osservatori erano incorsi.

In conclusione, sembra che la parete intestinale sia la sede principale della trasformazione dei proteosi e dei peptoni; ma, forse, non è la sede esclusiva; e, probabilmente, gli organi linfatici hanno anche la stessa proprietà trasformatrice. Non pare che sia sostenibile l'opinione di alcuni, che i proteosi e i peptoni, derivati dalla digestione gastrica siano convertiti in sieralbumina prima di attraversare la parete del tubo digerente, o per azione delle cellule epiteliali o sotto l'influenza di un *Micrococcus restituens* (I. BRINK).

Non è però assolutamente dimostrato che il prodotto di tale trasformazione sia proteina pura. Il fatto che, in conseguenza della digestione di sostanze proteiche, aumenta la sieralbumina, non dimostra direttamente che questa sia un prodotto di trasformazione dei proteosi e dei peptoni, almeno nei casi in cui furono fatte esperienze

con proteine del sangue. Ma negli altri casi (alimentazione con carne muscolare, caseina, ecc.) bisognerebbe non solamente ammettere la detta trasformazione, ma ancora che l'unico prodotto di essa è sempre sieralbumina, qualunque sia la sostanza proteica somministrata e digerita. La sieralbumina sarebbe così la proteina in cui si trasformerebbero, sintetizzandosi, sempre i prodotti della digestione di tutte le sostanze proteiche, e nello stesso tempo la sostanza proteica che, in seguito all'assimilazione, verrebbe trasformata nel muscolo in miosinogeno, nella glandola mammaria in caseina, ecc. L'ipotesi che il processo di scissione delle sostanze proteiche, iniziato nel tubo digerente per opera degli enzimi, continui nella parete intestinale, e che nel sangue passino i prodotti di tale ulteriore scissione (Bruecke, Voit, Fick) non è più sostenibile.

§ 104. Abbiamo visto che ogni sostanza proteica dà speciali prodotti di digestione: le albumine, albumosi e albuminpeptoni; le globuline, globulosi e globulinpeptoni; la miosina, miosinosi e miosinpeptoni; la caseina, caseosi e caseinpeptoni, ecc. Nello stesso modo, dalla scomposizione idrolitica dei gruppi proteici dei vari proteidi, nascono proteosi e peptoni corrispondenti; così dalla mucina, dall'emoglobina, dal nucleoistone, ecc. nascono speciali proteosi e peptoni, capaci anch'essi d'essere assorbiti. Ma se nella composizione chimica centesimale questi vari corpi non rivelano differenze degne di nota, non pare nemmeno che relativamente al loro assorbimento esistano differenze fra loro. Per ora possiamo solamente dire che tutti sono assorbiti, forse più o meno rapidamente; e che al di là della parete intestinale noi troviamo sempre le note proteine del plasma sanguigno, e propriamente un aumento di sieralbumine. Ogni altra affermazione a questo riguardo sarebbe per ora infondata. Lo stesso si può dire delle sostanze proteiche vegetali.

Ma di una questione gli studiosi non pare che si siano mai, a quanto io sappia, preoccupati. Qual'è il destino dei prodotti di digestione degli albuminoidi? In cosa si trasformano i gelatosi, gli elastosi e i corrispondenti peptoni nell'attraversare la parete intestinale? Si sa che un'alimentazione albuminoidea, sebbene non possa sopperire all'istogenesi, è capace di mantenere in equilibrio d'azoto un animale, almeno per qualche tempo. I prodotti della digestione degli albuminoidi sono dunque assorbiti; ma come? Passano nel sangue come gelatosi, ecc. o sono trasformati, e dove?

§ 105. L'intensità e la rapidità dell'assorbimento dipendono indirettamente dalla natura delle sostanze proteiche ingerite, ossia dalla loro più o meno facile digeribilità. L'essere sostanze proteiche animali o vegetali, l'essere delle proteine genuine o denaturate, delle proteine o dei proteidi, ecc. influisce considerevolmente sul processo della digestione e dell'assorbimento. Di non minore importanza è il

modo della loro somministrazione. Le sostanze proteiche meglio digeribili e assorbibili soffrono una perdita considerevole se sono ingerite insieme con materiali difficilmente digeribili, che irritano le pareti intestinali e ne provocano l'espulsione innanzi tempo. La perdita di N per le feci può elevarsi da 2,5-2,8 %, quant'è nelle migliori circostanze di nutrizione, a 22-48 %, quando le sostanze proteiche vengono somministrate in forma poco conveniente. Al contrario, è stato osservato che l'utilizzazione delle sostanze proteiche ingerite è migliore, quando si somministra nello stesso tempo, p. e. una determinata quantità di grasso. Ma su ciò non possiamo soffermarci.

Naturalmente sulla quantità di sostanze proteiche assorbite influisce lo stato dello stomaco e del pancreas. Purchè la funzione secernente di quest'ultimo sia integra, lo stomaco col suo succo gastrico può riescire anche superfluo, come organo digerente, non mai come organo disinfettante. Ma in seguito all'estirpazione totale o parziale del pancreas, l'utilizzazione delle sostanze proteiche ingerite si riduce rispettivamente al 54 % e al 44 % (MINKOWSKI e ABELMANN), mentre SANDMEYER trovò ancora una utilizzazione del 62-70 %. La digestione e l'assorbimento, negli animali spancreati, possono essere riportati ai valori normali, aggiungendo del pancreas spezzettato e tritato, o poltiglia di pancreas, all'alimento carneo, poichè il pancreas è indispensabile unicamente per l'enzima triptico che secerne.

§ 106. Per quanto riguarda le vie d'assorbimento dei prodotti della digestione delle sostanze proteiche, sembrava finora stabilito ch'esse penetrano nell'organismo per i capillari sanguigni della mucosa intestinale. Recenti ricerche hanno però fatto sospettare che anche i linfatici partecipino all'assorbimento di essi. Già WURTZ aveva trovato che il chilo di un bue conteneva 39,74 ‰ di albumina prima della ruminazione, e 59,64 % dopo avere ruminato. Ultimamente ASHER e BARBERA hanno affermato che dopo una dieta carnea non solo la quantità di linfa, ma anche il suo contenuto in albumina e il suo residuo secco aumentano assolutamente e percentualmente: ma i loro stessi dati analitici, come dicemmo, sembrano essere erronei.

§ 107. Un punto ben più oscuro è il meccanismo dell'assorbimento dei proteosi e dei peptoni. In generale sappiamo che nell'intestino l'assorbimento non ha luogo per semplice diffusione (VOIT e BAUER, 1869), nemmeno per quanto riguarda le soluzioni di cristalloidi (vedi pag. 72-73). Ma poichè la dottrina della diffusione aveva sempre dei partigiani, HEIDENHAIN prese a studiare in modo speciale tale questione, servendosi dei metodi fisici più recenti, e trovò che dall'intestino vengono assorbite soluzioni che posseggono una

pressione osmotica eguale o anche superiore a quella del siero del sangue dello stesso animale. Egli concluse per ciò che per effettuare tale assorbimento sono necessarie speciali forze, le quali hanno la loro sede nelle cellule viventi della parete intestinale. Le ricerche di HEIDENHAIN furono ripetute da HAMBURGER con gli stessi risultati. Anch'egli trovò che soluzioni di Na Cl, o di $Na NO^3$, di zucchero e di siero più o meno concentrate del siero del sangue dello stesso animale in esperimento, nel corso dell'assorbimento diventano isotoniche con questo, e che finalmente tutte vengono assorbite. Lo stesso potè dimostrare però negli animali morti, ond'egli negò l'importanza da HEIDENHAIN attribuita alle cellule **viventi**, e per spiegare il fenomeno, che non s'accordava con le leggi della diffusione, trasse in campo il principio dell'imbibizione (ved. più oltre, al cap. delle SOSTANZE COLLOIDI).

Ma ricerche piu recenti di O. COHNHEIM hanno confermato ed esteso l'affermazione di HEIDENHAIN. Egli ha infatti trovato che tutti i fenomeni che si osservano, quando s'introducono nell'intestino di un cane morto soluzioni di zucchero e si provvede nello stesso tempo che la corrente del liquido che circola nei capillari rimanga costante, possono essere spiegati secondo le leggi della diffusione e dell'osmosi, potendosi l'intestino in quelle condizioni paragonare a una qualsiasi membrana morta. Invece la possibilità dell'assorbimento dipende, secondo i resultati di COHNHEIM, dall'integrità della parete intestinale e propriamente del suo rivestimento epiteliale; anzi questo si oppone allo stabilirsi d'una corrente opposta, dal sangue o dalla linfa all'intestino, comportandosi come altre membrane viventi (p. es. la pelle, ved. in seguito, il cap. VI), che non si lasciano attraversare da un certo numero di sostanze disciolte che in una sola direzione. Ma se ciò vale per le soluzioni dei cristalloidi, *a fortiori* siamo costretti ad ammettere che le leggi della diffusione e dell'osmosi non governano l'assorbimento dei proteosi e dei peptoni. Sul quale non possiamo dire altro, se non che esso ha luogo come effetto di un'attività speciale delle cellule epiteliali della mucosa gastro-intestinale, essendo forse agevolato dalla maggiore solubilità, se non dalla minore complessità molecolare, dei proteosi e dei peptoni in confronto delle sostanze proteiche genuine.

5. — *PRODOTTI DEL CATABOLISMO DELLE SOSTANZE PROTEICHE.*

§ 108. Nel termine massimo di 24 ore, quasi tutto l'N introdotto nell'organismo (in qualsiasi modo) in forma di sostanze proteiche assimilabili ricomparisce nell'orina in forma di composti molto sem-

plici (ved. in seguito, e il cap. dell'ORINA). Questi corpi azotati di rifiuto rappresentano i termini estremi della disintegrazione delle sostanze proteiche avvenuta nei tessuti dell'organismo vivente.

Uno studio completo dei prodotti del catabolismo delle sostanze proteiche non è oggi ancora possibile per più ragioni. In primo luogo, i meccanismi che le cellule viventi dei tessuti animali mettono in opera nel disintegrare, nel decomporre le sostanze proteiche assimilate, ci sono ancora per la massima parte ignoti. Certamente sono numerosi e complessi, intervenendo processi di scissione semplice, processi di scomposizione ossidativa, processi analoghi ai fermentativi, ecc. Sappiamo solamente che il meccanismo di questa **proteolisi interna** dev'esser differente da quello della **proteolisi enzimatica esterna,** poichè nella prima non compariscono, come prodotti di scissione, proteosi e peptoni. E poichè si svolgono sotto l'influenza immediata del protoplasma vivente, crediamo conveniente esporre il poco che si sa in proposito, quando tratteremo della CHIMICA DELLA CELLULA VIVENTE.

In secondo luogo, non ostante le numerose ricerche specialmente degli ultimi anni, non tutte le fasi del catabolismo dei corpi proteici sono note, e nemmeno tutti i prodotti dei processi disintegrativi sono stati finora scoperti e studiati nella loro costituzione chimica. Onde la storia del catabolismo delle sostanze proteiche è necessariamente frammentaria, piena di molte lacune, incerta.

Finalmente noi non siamo in grado di ottenere i singoli numerosi prodotti di scissione, al momento della loro formazione. Quelli, ancora molto complessi, che si formano sotto l'influenza dell'attività di alcune cellule viventi, vengono ulteriormente scissi da altre, e i prodotti di questa scissione subiscono più profonde decomposizioni per opera di altri protoplasmi, finchè risultano i prodotti terminali, quelli che solamente sono capaci d'essere eliminati dagli organi escretori, e che noi ritroviamo nell'orina. Qui noi abbiamo, dunque, le espressioni ultime della disintegrazione dei corpi proteici, che nulla ci dicono sui vari stati per cui sono passate. I tessuti viventi posseggono varia dignità gerarchica per quanto riguarda l'utilizzazione delle energie tensive immagazzinate nei materiali assimilati. Alcuni, forse, utilizzano le energie che facilmente si svolgono dalla prima scissione della labilissima sostanza vivente, e forse fra i prodotti di questa primissima disintegrazione sono corpi altamente complessi quali, p. es., le globuline circolanti. Questi tessuti più nobili lasciano, forse, ad altri il lavorio più umile delle ulteriori scomposizioni, in cui la proporzione fra l'energia impiegata e quella sviluppata va sempre scemando a scapito di quest'ultima. Poichè, dunque, la parte principale dei processi disintegrativi si svolge nascosta nell'intimità dei tessuti e noi non possiamo seguirne le fasi.

necessariamente noi non possiamo raggiungere una nozione immediata e completa del catabolismo animale, che sarebbe solo possibile raggiungere quando una parte almeno dei singoli prodotti di scissione ci si rendesse in qualche luogo accessibile.

E poichè la massima parte dei prodotti del catabolismo delle sostanze proteiche viene eliminata per la via dei reni nell'orina, crediamo più conveniente trattare delle loro proprietà chimiche e dei metodi di loro determinazione qualitativa e quantitativa, quando studieremo la composizione chimica dell'ORINA, in cui i detti prodotti naturalmente si raccolgono. Qui vogliamo solamente prenderli in considerazione nel loro insieme, e contentarci di accennarne la genesi e la natura.

Ma non precisamente tutto l'N eliminato deriva da quello introdotto, quando l'equilibrio è completo. Noi siamo costretti ad ammettere che una parte delle sostanze proteiche introdotte serve alla sostituzione della sostanza vivente che si distrugge e alla rigenerazione degli elementi strutturali dei tessuti o di parti di questi elementi che giornalmente, per vari processi istolitici, vanno perduti per l'organismo. In ogni modo questa parte è piccolissima in confronto dell'altra. Negli organismi in via di sviluppo, poi, deve necessariamente verificarsi una ritenzione d'N. Non è però il caso di occuparci qui di tale questione. Trattandosi del più elevato processo sintetico (la costruzione della sostanza vivente), il quale si svolge sotto l'azione di forze ignote aventi la loro sede nel protoplasma delle cellule viventi, ne parleremo più tardi, quando tratteremo dei processi che si svolgono nella CELLULA VIVENTE.

§ 109. Però non tutti i prodotti di scissione delle sostanze proteiche sono destinati, come l'N, ad essere attualmente eliminati, dopo aver subìto ulteriori semplificazioni delle loro molecole. Dalla scissione delle sostanze proteiche risultano corpi, relativamente ancora complessi, che sono provvisoriamente trattenuti nell'organismo, risultando di materiali ricchi d'energia latente e capaci d'essere facilmente immagazzinati e risparmiati per i bisogni futuri dell'organismo.

Per quanto riguarda la possibile origine dei **grassi** e degl'**idrati di carbonio** dalla scomposizione delle sostanze proteiche, cui qui accenniamo, abbiamo detto qualche cosa nei Cap. III e IV; altro non possiamo aggiungervi, data la natura di questo libro; e per notizie più particolari dobbiamo rimandare ai trattati di fisiologia.

Altri prodotti relativamente complessi della disintegrazione dei proteici sarebbero: l'**acido glicoronico** (ved. Cap. IV, e in seguito: ORINA), l'**acido colalico** (ved. BILE), la **colesterina** (ved. Cap. IV), e secondo alcuni anche l'**acido ossalico** (ved. ORINA).

Fra i detti prodotti dev'essere annoverato anche l'**acido lattico**,

che, secondo le ricerche di GAGLIO, trovasi costantemente nel sangue dei cani durante la digestione nella quantità di 0,3-0,5 ‰, mentre durante il digiuno diminuisce (senza sparire mai) fino a 0,17 ‰. Quell'autore dimostrò ancora che l'acido lattico aumenta nel sangue che si fa circolare artificialmente a traverso i reni (fino a 0,66 ‰) o i polmoni (fino a 0,68 ‰); esso deriva molto probabilmente da una scomposizione delle sostanze proteiche dei tessuti sopravviventi, per il qual processo è indispensabile la presenza degli eritrociti del sangue. MINKOWSKI ha dimostrato che nelle oche l'acido lattico si forma nei tessuti e si trasforma nel fegato in acido urico, e che deriva da sostanze proteiche, poichè negli animali privati del fegato il lattato d'ammonio che comparisce nell'orina in luogo dell'acido urico [1]) non è influenzato dall'introduzione di idrati di carbonio, ma è aumentato dall'introduzione in maggior quantità di sostanze proteiche. Anche nell'uomo l'acido lattico comparisce nell'orina in seguito a gravi affezioni distruttive del fegato. In generale per i mammiferi si può dunque ammettere che un prodotto della scomposizione delle sostanze proteiche è il **lattato d'ammonio**, il quale è a sua volta il progenitore, in parte, più o meno diretto dell'urea. La quantità d'acido lattico dimostrabile nel sangue o nell'orina aumenta, non solamente quando ne è impedita la trasformazione in prodotti più semplici, ma anche quando aumenta di molto la scomposizione delle sostanze proteiche in generale. Così, p. es., sottraendo l'O agli animali, o semplicemente intralciando la loro respirazione, aumenta la disintegrazione dei corpi proteici e la formazione dell'acido lattico. Nel digiuno, in cui il metabolismo di quelli non si arresta mai, la formazione dell'acido lattico continua. La sorgente principale dell'acido lattico sono i muscoli [2]), in cui non manca mai, e in cui aumenta durante la fatica e nella rigidità cadaverica.

Quando la distruzione delle sostanze proteiche aumenta di molto, specialmente in casi patologici, si osserva anche formazione di **acetone** (v. NOORDEN).

§ 110. Non meno importante è un'altra categoria di prodotti complessi della scissione delle sostanze proteiche, quella cioè dei **pigmenti**. Alcuni di questi derivano dall'emoglobina del sangue (**bilirubina, urobilina**, ecc., ved. BILE, ORINA); altri da sostanze proteiche per sè stesse non pigmentate, e sono le **melanine** e i corpi affini. È di queste ultime che vogliamo qui solamente occuparci.

Sembra ormai accertato che corpi pigmentati, più o meno complessi.

---

[1]) Sui rapporti fra acido lattico e acido urico, ved. a proposito di questo (ORINA).

[2]) Sul probabile modo di sua formazione, ved. pag. 265 e seg.

possano nascere direttamente dalle proteine, durante la loro scomposizione.

Già BERDEZ e NENCKI, nelle loro ricerche sulle sostanze coloranti dei sarcomi melanotici, giunsero al risultato che il pigmento non deriva da trasformazione dell'emoglobina, ma probabilmente da una speciale condensazione dell'albumina. Anche SCHMIEDEBERG, studiando il pigmento dei sarcomi melanotici, venne alla conclusione che queste sostanze colorate (**melanine**) sono da considerarsi come derivati diretti dei corpi proteici. Egli stesso poi ottenne la migliore conferma di ciò, avendo potuto fabbricare e isolare i **corpi melanoidici** dalle proteine pure. Se queste vengono scaldate a lungo con acidi minerali concentrati, dapprima vi si sciolgono, poi il liquido assume un bel color violetto o rossastro, e va prendendo successivamente una tinta bruna sempre più carica, finchè si separano masse fioccose nerastre, le quali per le loro proprietà corrispondono perfettamente ai pigmenti neri degli animali sciolti in alcali, ma che sembrano derivare dalle sostanze proteiche in modo diverso da questi, onde SCHMIEDEBERG le chiamò **melanoidine** ed **acidi melanoidinici.**

Preparazione dell'acido melanoidinico. — Una soluzione di sieralbumina pura viene bollita; il coagulo bianchissimo vien lavato più volte sopra una retina di platino con acqua, alcool ed etere e poi con gli stessi liquidi in ordine inverso, e poi introdotto in un pallone di vetro contenente molta soluzione 25 % di HCl. Dopo che si è sciolto il coagulo, si continua a bollire il liquido ancora per 12 ore; quindi, per eliminare l'HCl in eccesso, lo si evapora in una capsula di porcellana sul bagnomaria, rinnovando sempre l'acqua che si evapora; finalmente si aggiunge al liquido siropposo molta acqua, e si filtra. Sul filtro rimane, dopo ripetuti lavaggi, una massa nera poltacea, che si scioglie in lissiva potassica diluita (meglio a caldo), formando un liquido bruno intenso, dal quale, filtrato, precipita l'acido melanoidinico in forma di fiocchi neri, mediante l'aggiunta di HCl. Si raccolgono questi fiocchi sopra un filtro, li si ridiscioglie in KOH e di nuovo li si precipita con HCl. Finalmente, dopo avere ripetuto lo stesso trattamento più volte, si lava la sostanza con alcool, e la si dissecca.

Allo stato secco l'acido melanoidinico si presenta come una massa nera splendente, fragile, solubile in alcali, ed ha la seguente formola fondamentale:

$C^{240} H^{231} N^{17} S^2 O^{58}$, o piuttosto: $C^{120} H^{114} N^8 S O^{29} + C^{120} H^{117} N^9 S O^{29}$.

Ora ciascuna di queste due formole può riportarsi a quella dell'antialbumide, secondo la seguente equazione:

1) $\underbrace{C^{120} H^{187} N^{27} S O^{37}}_{\text{(antialbumide)}} = \underbrace{C^{120} H^{114} N^8 S O^{29}}_{\text{(acido melanoidinico)}} + 19 N H^3 + 8 H^2 O$;

2) $C^{120} H^{187} N^{27} S O^{37} = C^{120} H^{117} N^9 S O^{29} + 18 N H^3 + 8 H^2 O$.

Così questo pigmento deriverebbe dall'albumina, come l'antialbumide durante la digestione; così si formerebbero prodotti pigmentati assai poveri di H. Ma il processo di loro formazione non deve

considerarsi come regolare, bensì come accessorio. In generale, però, possiamo dire che le differenze fra queste sostanze non sono accidentali, ma dipendono dal modo in cui si generano dalle sostanze proteiche.

I processi secondo cui la loro formazione ha luogo non sono facili ad indicarsi, sia *in vitro*, sia nell'organismo vivente. Noi abbiamo qui da fare, dice lo SCHMIEDEBERG, con una lunga serie graduale di trasformazioni delle sostanze proteiche, che si potrebbero paragonare a quelle che si svolgono nella formazione dell'*humus*. Abbiamo detto che la loro produzione è accompagnata da una liberazione di H e di NH^3; forse l'H viene staccato anche per via d'ossidazioni. Sembra inoltre che il materiale donde questi pigmenti direttamente derivano non siano propriamente le proteine genuine, ma alcuni loro prodotti di scomposizione più ricchi di S in rapporto al contenuto loro in C, i quali non sono più capaci di un'ulteriore scissione idrolitica. Come nelle esperienze *in vitro*, finalmente, anche nell'organismo vivente, la formazione delle melanine costituirebbe una specie di **reazione accessoria** nel processo proteolitico interno, onde l'irregolarità e la diversità della pigmentazione degli individui.

§ 111. Ma i prodotti catabolici definitivi, quelli destinati ad essere eliminati prima o poi dall'organismo e che rappresentano veramente la scoria del metabolismo azotato sono di costituzione molto più semplice.

1. Una prima categoria di questi prodotti catabolici delle sostanze proteiche è quella che comprende i corpi del **gruppo dell'urea**. La massima parte dell'N contenuto nelle sostanze proteiche abbandona il corpo in forma di **urea**, e sembra ormai certo che varie sono le sedi e le vie di sua formazione, e che i processi ossidativi hanno piccolissima o nessuna parte nella sua genesi. Un'altra parte dall'N viene eliminato in forma di **ammoniaca**, e pare che la sua quantità sia in ragione inversa di quella dell'urea. Numerose ricerche hanno accertato che l'**acido urico** è un prodotto della scissione dei corpi nucleinici; mentre l'**acido ippurico** è una combinazione dell'acido benzoico con la **glicocolla**, e apparisce tutte le volte che nell'organismo ha luogo formazione di **acido benzoico**. Due altri prodotti degni di nota sono la **creatina** e la **creatinina**, o più comunemente la creatinina che è l'anidride della creatina, e deriva o da questa o dagli alimenti carnei.

2. Nella seconda categoria vanno compresi i corpi della serie aromatica, corpi cioè che contengono uno o più nuclei benzolici, e che derivano direttamente dai gruppi analoghi contenuti nella molecola proteica. Questi corpi appartengono:

o al gruppo del fenolo (**tirosina, ossiacidi aromatici, fenolo, cresolo**);

o al gruppo del fenile (**acidi fenilacetico** e **fenilpropionico**);

o al gruppo dell'indolo (**indolo, scatolo, acidi scatolacetico e scatolcarbonico**). Ma abbiamo detto che questi corpi non si formano, in condizioni perfettamente normali, nell'organismo, bensì nell'intestino crasso, in conseguenza delle putrefazioni che ivi si svolgono. Essi appariscono nell'orina, dunque, in quanto che sono in parte assorbiti dall'intestino, e non costituiscono propriamente prodotti della disintegrazione fisiologica delle sostanze proteiche; onde ne parleremo a proposito delle FECI.

3. In una terza categoria si trovano i corpi contenenti lo **S** proteico, che si viene staccando durante i processi disintegrativi. Una parte di questo S apparisce in forma di sali dell'**acido solfocianidrico** nella saliva e di sali dell'**acido taurocolico** (o di **taurina**) nella bile.

Ma la parte maggiore del S proteico abbandona il corpo in forma di **solfati** o di **eterosolfati**, per la via dei reni; sebbene un'altra parte di S, in uno stato di minore ossidazione, apparisca in forma di **cistina** e forse anche d'**iposolfiti**. Questo sarebbe il **S neutro**, da contrapporsi al primo che costituirebbe il **S acido**.

4. Finora non si conoscono prodotti catabolici delle sostanze proteiche fosforate e ferruginose, i quali abbandonino il corpo in una forma tale da poter essere, come gli altri dianzi enumerati, considerati come prodotti semplici di rifiuto. Nell'orina sono stati, è vero, scoperti proteidi fosforati e composti ferruginosi, in tracce; ma questi (ved. ORINA) sono troppo complessi per poter essere annoverati fra i prodotti catabolici. La lecitina si trova anch'essa in alcune escrezioni (bile, contenuto intestinale); ma oltre ad essere una sostanza complessa, essa è per sè stessa un costituente normale e importantissimo dell'organismo (ved. Cap. IV). Cosa avvenga del gruppo fosforato nella scissione dei corpi nucleinici, della lecitina, del protagono; se esso sia e come impiegato alla sintesi della caseina, delle lecitalbumine o di altri proteidi; cosa avvenga del gruppo ferruginoso nella scomposizione dell'emoglobina e più ancora dell'ematina: tutti questi sono problemi non ancora risoluti e che esigono ricerche accurate e pazienti.

VI. — Bibliografia delle sostanze proteiche.

(PARTE SECONDA).

(789) 1847. SCHMIDT C. *Ueber das Wesen des Verdauungsprocesses.* Ann. d. Chem. u. Pharm., Bd. LXI, p. 311.

(790) 1860. METZLER. *Beiträge zur Verdauung des Leims.* Giessen. (Schmidt's Jahrb., Bd. CX, p. 153).

(791) 1869. Voit C. e Bauer J. *Ueber die Aufsaugung im Dick-und Dünndarme.* Zeitschr. f. Biol., Bd. V, p. 536.
(792) 1874. Johnsson. *On certain compounds of albumin with acids.* Journ. of. chem. Soc., vol. XXVI, p. 734.
(793) 1876. Nencki. *Ueber die Zersetzung der Gelatine und des Eiweisses bei der Fäulniss mit Pankreas.* Bern. (Jahresbericht f. Thierchemie, Bd. VI, p. 31).
(794) 1877. Herth R. *Ueber die chemische Natur des Peptons und sein Verhältniss zum Eiweiss.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. I, pag. 277-298.
(795) 1877. Drosdoff W. *Ueber die Resorption der Peptone etc.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd I, p. 216-232.
(796) 1877. Adamkiewicz A. *Die Natur und der Nährwerth des Peptons.* Berlin.
(797) 1877. Bokay A. *Ueber die Verdaulichkeit des Nucleins und Lecithins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 157-164.
(798) 1877. Lubavin. (Nucleina dalla caseina di latte di vacca). Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. X, p. 2237-2240.
(799) 1877. Salkowski E. *Ueber den Vorgang der Harnstoffbildung im Thierkörper und den Einfluss der Ammoniaksalze auf denselben.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. I, p. 1-59.
(800) 1878. Salkowski E. *Weitere Beiträge zur Theorie der Harnstoffbildung.* Ibid., p. 374-385.
(801) 1878. Salomon G. *Ueber die Verbreitung und Entstehung von Hypoxanthin und Milchsäure im thierischen Organismus.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 65-95.
(802) 1879. Hofmeister Fr. *Ueber die Rückbildung von Eiweiss aus Pepton.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 206-207.
(803) 1879. Kossel A. *Ueber die chemische Zusammensetzung der Peptone.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 58-62.
(804) 1879. Schroeder W. *Ueber die Verwandlung des Ammoniaks in Harnsäure im Organismus des Huhns.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 228-240.
(805) 1879. Brieger L. *Ueber die aromatischen Produkte der Fäulniss aus Eiweiss.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 134-148.
(806) 1879. Baumann E. e Brieger L. *Ueber die Entstehung von Kresolen bei der Fäulniss.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 149-155.
(807) 1879. Weyl Th. *Spaltung von Tyrosin durch Fäulniss.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 312-322.
(808) 1879. Schroeder W. v. *Ueber die Bildung von Hippursäure in Organismus des Schafes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 323-331.
(809) 1880. Schmidt-Muelheim A. *Beiträge zur Kenntniss des Peptons und seiner physiologischen Bedeutung.* Arch. f. Physiol., pag. 33-56.
(810) 1880. Gaglio G. *Die Milchsäure des Blutes und ihre Ursprungsstätten.* Arch. für Physiol., p. 400.
(811) 1880. Drechsel E. *Ueber die Bildung des Harnstoffs im thierischen Organismus.* Arch. f. Physiol., p. 550-565.
(812) 1880. Hofmeister Fr. *Zur Lehre vom Pepton.* I. *Ueber den Nachweis von Pepton im Harn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 253-268. II. *Ueber das Pepton des Eiters,* Ibid., p. 268-281.
(813) 1880. Gaehtgens C. *Ueber Ammoniakausscheidung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 35-53.
(814) 1880. Salkowski E. *Weitere Beiträge zur Chemie der Harnstoffbildung. I. Das Verhalten des Glycocoll etc. im Organismus.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 54-85. II, p. 100-132.
(815) 1880. Salvioli G. *Eine neue Methode für die Untersuchung der Functionen des Dünndarms.* Arch. f. Physiol., Supp., pag. 95-112.
(816) 1881. Hofmeister Fr. *Zur Lehre vom Pepton.* III. *Ueber das Schicksal des Peptons im Blute.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. V, p. 127-151.
(817) 1881. Colasanti G. *Ricerche sperimentali sulla formazione dell'acido urico.* Roma.
(818) 1881. Idem. *I cambiamenti di forma dell'acido urico per l'azione della glicerina.* Mem. R. Accad. med. di Roma, vol. I, fasc. 1.

(819) 1881. Fano G. *Das Verhalten des Peptons und Tryptons gegen Blut und Lymphe.* Arch. f. Physiol., pag. 277-296.
(820) 1881-82. Schmidt-Muelheim. *Das Eiweiss auf seiner Wanderung durch den Tierkörper.* Biol. Centr., Bd. I, p. 312-320, 341-349, 558-571.
(821) 1882. Horbaczewsky J. *Ueber das Verhalten des Elastins bei der Pepsinverdauung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 330-345.
(822) 1882. Hofmeister Fr. *Zur Lehre vom Pepton.* IV. *Ueber die Verbreitung des Peptons im Thierkörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 51-68. V. *Das Verhalten des Peptons in der Magenschleimhaut,* Ibid., p. 69-74.
(823) 1882. Gaglio G. *Ricerche sperimentali da servire alla storia della urcogenesi epatica.* Lo Sperimentale, fasc. di aprile.
(824) 1882. Blendermann H. *Beiträge zur Kenntniss der Bildung und Zersetzung des Tyrosins im Organismus.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 234-262.
(825) 1883. Otto J. *Beiträge zur Kenntniss der Umwandlung von Eiweissstoffen durch Pancreasferment.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, pagine 129-148.
(826) 1883. Schotten C. *Ueber das Verhalten des Tyrosins und der aromatischen Oxysäuren im Organismus.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 23-34.
(827) 1883. Salkowski E. e Salkowski H. *Ueber das Verhalten der aus dem Eiweiss durch Fäulniss entstehenden aromatischen Säuren im Thierkörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 161-177.
(828) 1883. Mauthner J. *Notiz über das optische Drehungsvermögen des Leucins und Cystins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VII, p. 222-226.
(829) 1884. Salkowski E. *Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss.* I: *Ueber die Bildung des Indols und Skatols.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 417-466.
(830) 1884. Lehmann V. *Die nächsten Verdauungsprodukte der Eiweisskörper.* Biol. Centralbl., Bd. IV, p. 407-412.
(831) 1884. Herth R. *Ueber die Hemialbumose oder das Propepton.* Sitz.-ber. d. Kais. Akad. d. Wissensch. in Wien, Bd. XC, III.e Abth., Juniheft.
(832) 1884. Drechsel E. *Elektrolysen und Elektrosynthesen.* Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXIX.
(833) 1884. Salkowski E. *Ueber die Bildung von Harnstoff aus Sarkosin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 149-157.
(834) 1884. Baumann E. *Ueber Cystin und Cysteïn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VIII, p. 299-305.
(835) 1885. Salkowski E. *Zur Kenntniss der Eiweissfäulniss.* II: *Die Skatolcarbonsäure.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 8-22.
(836) 1885. Id. *Ueber das Verhalten der Skatolcarbonsäure im Organismus.* Ibid., pag. 23-33.
(837) 1885. Salkowski E. *Zur Weyl'schen Kreatininreaktion.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 127-128.
(838) 1885. Goldmann E. *Ueber das Schicksal des Cysteïns und über die Entstehung der Schwefelsäure im Thierkörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 260-272.
(839) 1886. Gumilewski. *Ueber Resorption im Dünndarm.* Pflüger's Arch., Bd. XXXIX, p. 556.
(840) 1886. Thierfelder H. *Zur Kenntniss der Caseinpeptone.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 577-587.
(841) 1886. Pollitzer S. *On the physiol. action of peptones and albumoses.* Journ. of Physiol., vol. VII, p. 283-290.
(842) 1886. Pfeiffer Th. *Die Bestimm. des Stickstoffs der Stoffwechselprodukte.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. X, p. 561-576.
(843) 1886. Schulze E. e Bosshard E. *Untersuch. über die Amidosäuren, welche bei der Zersetzung der Eiweissstoffe durch Salzsäure und durch Barytwasser entstehen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 134-145.

(844) 1886. Salkowski E. *Ueber die Entstehung der aromatischen Substanzen im Thierkörper.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. X, p. 265-272.
(845) 1887. Chittenden e Painter. *Kaseïn und dessen erste Spaltungsprodukte.* New-Haven. (Hermann's Jahresber., Bd. XV, p. 254).
(846) 1887. Frenzel J. *Verdauung lebenden Gewebes und Selbstverdauung.* Biol. Centr., Bd. VI, p. 681-685.
(847) 1887. Baas K. *Ueber das Verhalten des Tyrosins zur Hippursäurebildung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 485-491.
(848) 1887. Hasebroek K. *Ueber erste Produkte der Magenverdauung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 348-360.
(849) 1887. Stutzer A. *Zur Analyse der im Koth enthaltenen stickstoffhaltigen Stoffwechselprodukte.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 361-364.
(850) 1887. Id. *Neue Untersuchungen über das Verhalten der Proteinstoffe zu den Verdauungsfermente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, pagine 529-536.
(851) 1887. Herrmann A. *Ueber die Verdauung des Fibrins durch Trypsin.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XI, p. 508-524.
(852) 1888. Neumeister R. *Bemerkungen zur Chemie der Albumosen und Peptone.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXIV, p. 267-271.
(853) 1888. Id. *Ueber die Einführung der Albumosen und Peptone in den Organismus.* Ibid., p. 272-292.
(854) 1888. Axenfeld D. *Intorno alla trasformazione dei sali di ammonio in urea nell'organismo.* Annali di Chimica ecc., vol. VIII (ser. IV).
(855) 1889. Moritz. *Die Verdeckung der Salzsäure des Magensaftes durch Eiweisskörper.* Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. XLIV, p. 277.
(856) 1889. Giacosa P. e Molinari V. *Studi sulle reazioni usate a stabilire la presenza di acido cloridrico libero nel succo gastrico.* Ann. di chim. e farm., vol. IX (ser. 4.ª), p. 13-22.
(857) 1889. Blum. *Experimentaluntersuchung über die Salzsäurebindung bei künstl. Verdauung.* In.-Diss., Frankfurt a. M.
(858) 1890. Chittenden R. H. e Hartwell J. A. *Crystalline globulin and globuloses, or vitelloses.* Journ. of Physiol., vol. XI, p. 435-447.
(859) 1890. Chittenden R. H. e Smith E. E. *On the primary cleavage products formed in the digestion of gluten-casein of wheat by pepsin-hydrochloric acid.* Journ. of Physiol., vol. XI, p. 410-434.
(860) 1890. Salkowski e Kumagawa. *Ueber den Begriff der freien und gebundenen Salzsäure im Magensaft.* Virchow's Arch., Bd. CXXII, p. 235.
(861) 1891. Araki. *Ueber die Bildung von Milchsäure im Organismus bei Sauerstoffmangel.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 335 e 546.
(862) 1891. Edkins S. J. *The changes produced in casein by the action of pancreatic and rennet extracts.* Journ. of Physiol., vol. XII, p. 193-219.
(863) 1891 Chittenden R. H. e Hartwell J. A. *The relative formation of proteoses and peptones in gastric digestion.* Journ. of Physiol., vol. XII, p. 12-22.
(864) 1891. Chittenden R. H. e Goodwin R. *Myosin-peptone.* Ibid., p. 34-41.
(865) 1891. Chittenden R. H. e Solley F. P. *The primary cleavage products formed in the digestion of gelatin.* Ibid., p. 23-33.
(866) 1891. Horton-Smith P. *On the composition and action of peptonised milk.* Ibid., p. 42-71.
(867) 1891. Devoto L. *Ueber den Nachweis des Peptons und eine neue Art der quantitativen Eiweissbestimmung.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XV, p. 465-476.
(868) 1891. Breuzinger K. *Zur Kenntniss des Cystins und des Cysteïns.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 552-588.
(869) 1891. Rosenheim T. *Untersuchungen über Bindung der Salzsäure nebst Beitrag zur Methodik der quantitativen Bestimmung der freien Salzsäure.* Centralbl. f. klin. Med., n. 39.
(870) 1891. Hoffmann F. A. *Die Bindung der Salzsäure im Magensaft.* Ibid., n. 42.
(871) 1892. Paal C. *Ueber die Peptonsalze des Glutins.* Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch., Jahrg. XXV, Heft 6, p. 176.

(872) 1892. SALKOWSKI. *Ueber die Bindung der Salzsäure durch Amidosäuren.* Virchow's Arch., Bd. CXXVII, p. 561.
(873) 1892. IRASAVA T. *Ueber die Milchsäure im Blut und Harn.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 349.
(874) 1892. BLUM. *Ueber die Salzsäurebindung bei künstlicher Verdauung.* Zeitschr. f. klin. Med., Bd. XXI, p. 558.
(875) 1892. KUEHNE W. *Erfahrungen über Albumosen und Peptone.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXIX, p. 1-40.
(876) 1892. ARAKI. *Ueber die Bildung von Milchsäure im Organismus bei Sauerstoffmangel.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XVI, p. 253.
(877) 1893. MINKOWSKI. *Ueber die Ursache der Milchsäureausscheidung in den Organen bei gestörter Zirkulation und bei der Blausäurevergiftung.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXI, p. 214.
(878) 1893. ARAKI. *Ueber die Bildung von Milchsäure im Organismus bei Sauerstoffmangel.* Zeitschr. physiol. Chem. Bd. XVII, p. 31.
(879) 1893. CHITTENDEN R. H. e AMERMANN G. L. *A comparison of artificial and natural gastric digestion together with a study of the diffusibility of proteoses and peptone.* Journ. of Physiol., vol. XIV, pagine 483-508.
(880) 1893. POPOFF P. M. *Ueber die Einwirkung von eiweissverdauenden Fermenten auf die Nucleïnstoffe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 533-559.
(881) 1893. GUMLICH. *Ueber die Aufnahme der Nucleïne in den thierischen Organismus.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 508-512.
(882) 1893. GILLESPIE A. L. *On the gastric digestion of proteids.* Journ. of Anat. and Physiol., vol. XXVII, p. 195.
(883) 1893. WULFF C. *Nachträgliche Bemerkungen zu meiner Abhandlung: « Zum Nachweis der Harnsäure in den Organen ».* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 107-108.
(884) 1893. Id. *Zum Nachweis der Harnsäure in den Organen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 634-643.
(885) 1893. SCHULZE E. e LIKIERNIK A. *Ueber die Constitution des Leucins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 513-535.
(886) 1893. GMELIN B. *Beitrag zur Kenntniss des Leucins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 21-42.
(887) 1894. HEIDENHAIN R. *Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm.* Pflüger's Arch., Bd. LVI, p. 579.
(888) 1894. HILDEBRANDT H. *Zur Frage nach dem Nährwerth der Albumosen.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XVIII, p. 180-192.
(889) 1894. DASTRE A. *Digestion sans ferments digestifs.* Arch. de physiol., ann. XXVI, p. 464.
(890) 1894. Id. *La digestion saline de la fibrine.* Arch. de physiol., ann. XXVI, p. 919.
(891) 1894. MOHR P. *Beiträge zur titrimetrischen Bestimmung der Magenacidität.* Zeitschr., physiol. Ch., Bd. XIX, p. 647-650.
(892) 1894. PAAL C. *Ueber die Peptonsalze des Eieralbumins.* Ber. deutsch. Chem. Gesell., Jahrg. XXVII, Heft 13, p. 347.
(893) 1894. HORBACZEWSKI J. *Ueber die Trennung der Harnsäure von der Xanthinbasen.* Zeischr. physiol. Ch., Bd. XVIII, p. 341-350.
(894) 1894. KRUEGER M. *Ueber die Fällbarkeit der Harnsäure und der Basen der Harnsäuregruppe als Kupferoxydulverbindungen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVIII, p. 351-357.
(895) 1894. Id. *Zur Kenntniss des Adenins und Hypoxanthins.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XVIII, p. 423-458.
(896) 1894. Id., Idem. Ibidem, p. 458-472.
(897) 1895. ARAKI V. *Ueber die Bildung von Milchsäure im Organismus bei Sauerstoffmangel.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, p. 422.
(898) 1895. HAMBURGER J. H. *Ueber die Regelung der osmotischen Spannkraft von Flüssigkeiten in Bauch- und Pericardialhöhle.* Arch. f. Physiol., p. 281.

(899) 1895. Sebelien J. *Ueber das Verhalten des bei der Pepsindigestion des Caseïns abgespaltenen Pseudonucleïns.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, p. 443-454.
(900) 1895. Moraczewski W. v. *Verdauungsproducte des Caseïns und ihr Phosphorgehalt.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, p. 28-51.
(901) 1895. Sjoeqvist J. *Physiologisch-chemische Beobachtungen über Salzsäure.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. V, p. 277-377.
(902) 1895. Id. *Berichtigungen und Zusätze zu meinem Aufsatz: Physiologisch-chemische Beob., etc.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. VI, p. 255-261.
(903) 1895. Cohn R. *Zur Kenntniss des bei der Pancreas-verdauung entstehenden Leucins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XX, p. 203-209.
(904) 1896. Halliburton W. D. e Brodie T. Gr. *Action of pancreatic juice on milk.* Journ. of Physiol., vol. XX, pag. 97-106.
(905) 1896. Colls P. C. *Notes on creatinine.* Journ. of physiol., vol. XX, pagine 107-111.
(906) 1896. Hammarsten O. *Ueber das Verhalten des Paracaseïns zu dem Labenzyme.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXII, p. 103-126.
(907) 1896. Cohnheim O. *Ueber das Salzsäure-Bindungsvermögen der Albumosen und Peptone.* Zeitschr. f. Biol. Bd. XXXIII, p. 489-520.
(908) 1896. Schiff U. *Ricerche intorno ai composti del biureto.* Orosi, Firenze, 1896.
(909) 1896. Hedin S. G. *Eine Methode, das Lysin zu isoliren, nebst einigen Bemerkungen über das Lysatinin.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. XXI, p. 297-305.
(910) 1896. Heidenhain R. *Bemerkungen und Versuche betreffs der Resorption in der Bauchhöhle.* Pflüger's Arch., Bd. LXII, p. 320.
(911) 1896. Hamburger J. H. *Ueber den Einfluss des intrabdominalen Drucks auf die Resorption in der Bauchhöhle.* Arch. f. Physiol., pag. 302.
(912) 1896. Id. *Ueber den Einfluss des intraintestinalen Drucks auf die Resorption im Dünndarm.* Arch. f. Physiol., pag. 428.
(913) 1896. Nencki M., Pawlow J. e Zaleski J. *Ueber den Ammoniakgehalt des Blutes und der Organe und die Harnstoffbildung bei den Säugethieren.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXXVII, p. 26.
(914) 1896. Paal C. *Ueber Desamidierung des Glutinpeptons.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXIX, pag. 1084.
(915) 1897. Asher L. e Barbèra A. G. *Ueber die Resorption des Nahrungseiweisses durch die Lymphwege.* Centr. f. Physiol., 18 sept., H. 13.
(916) 1897. Gamgee A. *Die physiologische Chemie der Verdauung mit Einschluss der pathologischen Chemie.* (Deutsche Ausgabe von L. Ascher und H. R. Beyer). Leipzig und Wien, Fr. Deuticke.
(917) 1897. Kutscher Fr. *Zur Kenntniss der ersten Verdauungsproducte des Eiweisses.* Z. physiol. Ch., Bd. XXIII, p. 115-120.
(918) 1897. Reid W. E. *A comparison of the diffusion into serum and absorption by the intestine of peptone and glucose.* Journ. of physiol., vol. XXI, p. 408-425.
(919) 1897. Id. *A diffusion apparatus.* Journ. of physiol., vol. XXI, p. 85-100.
(920) 1897. Moore B. e Rockwood D. P. *On the reaction of the intestine in relationship to intestinal digestion.* Journ. of physiol., vol. XXI, p. 373-381.
(921) 1898. Cohnheim O. *Ueber Dünndarmresorption.* Zeitschr. f. Biol., Bd. XXXVI, p. 129-153.
(922) 1898. Koevesi. *Beiträge zur Lehre der Resorption im Dünndarm.* Centr. f. Physiol., Bd. XI, n. 18-19.
(923) 1898. Munk J. *Ueber die Resorptionswege des Nahrungseiweisses.* Ibid., n. 19.

CAPITOLO SESTO.

Le sostanze colloidi

---

§ 1. **Caratteri generali delle sostanze colloidi.** — Le sostanze colloidi sono dei corpi amorfi, non volatili, aventi un'individualità chimica indecisa, caratterizzati da trasformazioni lente e vaghe, uniformi, qualunque sia la loro origine e natura (minerale o organica), e la loro composizione. Sono delle materie cornee, più o meno translucide, o delle masse gelatinose. Hanno un debole potere di diffusione; formano con l'acqua dei liquidi viscosi, più o meno densi, simili a soluzioni di colla. Per ciò GRAHAM, che primo, dopo DUTROCHET e DUBRUNFAUT (1854), studiò questi corpi con gran cura, li chiamò **colloidi,** distinguendoli così dai corpi che si presentano con una forma geometrica determinata, i **cristalloidi.** Ma le differenze esistenti fra queste due classi di sostanze sono ancora più profonde di quello che resulta dal solo aspetto esteriore in cui si presentano. Le sostanze cristalloidi si sciolgono perfettamente in acqua, causando modificazioni più o meno forti di temperatura del liquido, elevano la temperatura d'ebollizione, abbassano il punto di congelamento, ed esercitano in generale una grande influenza sulle proprietà della soluzione. Le sostanze colloidi presentano queste proprietà solo in minimo grado, poichè le loro soluzioni sono (secondo OSTWALD) piuttosto dei miscugli meccanici anzi che vere combinazioni. Tuttavia relativamente ad una proprietà possono compararsi le soluzioni di sostanze cristalloidi con le soluzioni (chiamiamole pure così) di sostanze colloidi: nella viscosità o attrito interno, che, come vedremo, è enormemente superiore in queste ultime.

Lo stato colloide della materia è frequente in natura, ed ha un grande ufficio. Nell'analisi minerale, nell'analisi immediata organica, nell'industria della tintura con l'uso dei mordenti di ferro e d'allumina, c'incontriamo spesso coi colloidi e abbiamo occasione di studiare le loro svariate reazioni. La loro debole diffusibilità ha una grande importanza nella vegetazione delle piante e nella nutrizione degli esseri superiori. Infine lo stato colloidale è caratteristico degli

organismi viventi (GRIMAUX). I colloidi liquidi di natura neutra, debolmente uniti a una grande massa d'acqua, hanno — dice felicemente il GAUTIER — una mollezza che li rende propri, come l'acqua stessa, ma meno potentemente e meno bruscamente, ai fenomeni di **diffusione**. Essi sono lentamente penetrabili dai reattivi, e le loro molecole servono d'intermediari perpetui e come di ammortizzatori alle più delicate azioni fisico-chimiche. Il tempo diventa, grazie a questa proprietà, una delle condizioni delle reazioni che si producono nei nostri tessuti e nei nostri succhi organici, reazioni che si continuano senza scosse, successivamente, lentamente, assicurando così alla funzione degli organi una progressiva e incessante produzione di energia, proveniente da quelle reazioni attenuate, ma continue.

Quando si pensa che l'organismo è fatto essenzialmente di materie colloidi, si rimane facilmente persuasi dell'importanza che hanno le proprietà fisiche e chimiche di questi corpi, dell'utilità di proseguirne lo studio più che non sia stato fatto sinora; e si troverà giustificato che noi abbiamo voluto consacrare a questo argomento un capitolo speciale.

GRAHAM, il quale affermò che l'esistenza dei corpi colloidi non è che una continua metamorfosi, e che lo stato colloidale della materia è piuttosto un periodo dinamico di essa, lo stato cristalloide essendo il suo periodo statico, venne alla distinzione di questi corpi dai corpi cristalloidi, studiando la velocità di diffusione nell'acqua pura di sostanze d'origine diversa. Facendo queste ricerche egli trovò che l'albumina, la gomma, il tannino, la caramella, ecc. posseggono una diffusibilità assai debole in confronto a quella dei corpi cristallizzati, come il Na Cl, il K Cl, ecc. La velocità di diffusione, p. e., della caramella nell'acqua pura è 40 volte minore di quella del Na Cl. Egli potè inoltre, in questi suoi studi, stabilire un principio generale molto importante, quello cioè che **i liquidi colloidi non esercitano alcuna influenza sulla diffusione nel loro interno dei corpi cristalloidi, mentre ritardano ancora più quella già lenta di altri corpi colloidi.**

§ 2. **Separazione delle sostanze colloidi dalle cristalloidi.** — Per separare le sostanze colloidi dalle cristalloidi, MARTIN filtra i liquidi sotto una pressione di 40-50 atmosfere a traverso una sottile membrana di gelatina o di acido silicico gelatinoso, che riveste una candela di PASTEUR-CHAMBERLAND. A traverso questo filtro non passano: l'albume d'ovo, la sierina, la sieroglobulina, l'ovoglobulina, il fibrinogeno, la caseina le nucleoalbumine, l'emoglobina, il glicogeno, l'amido solubile, l'ematina acida, l'ematina alcalina, il pigmento del siero del sangue e quello dell'albume d'ovo. Vi passano, invece, in parte, le acidoproteine e le alcaliproteine, i proteosi e i peptoni, la caramella, la biliverdina, le destrine, l'urocromo, e tutti i cristalloidi, i quali attraversano la membrana con la stessa facilità dell'acqua.

Dalla parte teoretica del lavoro di MARTIN citiamo, inoltre, i seguenti fatti.

Se una soluzione di zuccaro è sottoposta ad una forte pressione, passano a traverso una membranella di gelatina le molecole d'acqua e quelle di zucchero nella stessa proporzione. Se invece non v'ha pressione, la membrana è molto più permeabile all'acqua che allo zucchero. Gli stessi fatti furono osservati con membrane animali (pericardio, vescica, uretere) da W. Schmidt e Hoppe-Seyler. Schmidt sperimentò con una pressione di 1-2 metri d'acqua, ma quando egli disseccava perfettamente la membrana prima di raccogliere il filtrato, trovava in questo la stessa proporzione di sale che era nel liquido da filtrare. Un'altra osservazione fatta da Schmidt fu che la velocità di filtrazione di soluzioni saline attraverso membrane animali variava con la pressione e con la temperatura in accordo coi risultati ottenuti da Poiseuille per quanto riguarda il passaggio di soluzioni saline a traverso sottili capillari di vetro (ved. cap. II, **Teoria delle soluzioni**).

Schmidt e Hoppe-Seyler in seguito trovarono che soluzioni di corpi colloidi, quali la gomma e l'albumina, filtrate attraverso membrane animali, si comportavano differentemente, e che i filtrati erano meno concentrati delle soluzioni originali.

Con una membrana di gelatina o di acido silicico, Martin trovò che l'albumina non passa nè per diffusione nè per filtrazione sotto pressione. Per spiegare questo fatto si potrebbe ammettere, come fece Hoppe-Seyler, che l'albumina non è in soluzione; e infatti Ostwald ammette che queste così dette soluzioni non sono che miscugli meccanici anzichè vere combinazioni, donde si può inferire ch'egli creda che non sono soluzioni.

Quest'opinione sarebbe però insostenibile, secondo Martin. Infatti Graham mostrò che l'albumina possiede una piccola ma netta costante di diffusione, e inoltre Nernst ha dimostrato che questa diffusione è dovuta alla pressione osmotica: ora la capacità di esercitare una pressione osmotica è un criterio sicuro di vera soluzione.

Lo stesso Martin ha fatto una serie di esperienze per determinare la pressione osmotica dell'albumina e dell'emoglobina in soluzione acquosa. Egli, servendosi del metodo di Starling (che usava una membrana di gelatina sopra una membrana peritoneale) alquanto modificato, adoperava una membrana di acido silicico depositata negl'interstizi delle pareti d'un vaso d'argilla. Aspettando che le tracce di sali che si potessero trovare nelle soluzioni dei colloidi fossero eliminate, egli trovò che soluzioni diluite di albumina e di emoglobina esercitano una piccola ma costante pressione osmotica, che varia con la temperatura in accordo con le leggi sui gas.

Se dunque l'albumina si trova in uno stato di vera soluzione la sola ragione che, secondo Martin, ne impedisce il passaggio attraverso la membrana, sotto alte pressioni, dev'essere la grandezza delle sue molecole in rapporto alla piccolezza degli spazi della membrana colloide.

Che le molecole proteiche siano straordinariamente grandi si può dedurre dalle seguenti considerazioni, in mancanza di dati precisi per determinare il volume delle molecole dei corpi in soluzione acquosa. Per quanto riguarda i sali minerali, le cui molecole nelle soluzioni acquose molto probabilmente hanno volumi eguali, il peso specifico dei sali cresce, almeno in moltissimi casi, col peso molecolare. Il peso molecolare dell'emoglobina è circa 16000, e quello dei proteici del siero del sangue forse 20000-30000; ma non ostante questo enorme peso molecolare, il peso specifico di questi corpi è poco superiore a quello dell'acqua; onde sembra necessario ammettere una considerevole estensione degli atomi costituenti la molecola proteica, ossia un grande volume della medesima, in confronto di quello degli ordinari cristalloidi.

Ma non si può senz'altro ammettere che la grandezza della molecola proteica, dato ch'essa sia così grande, sia la ragione vera della difficoltà insuperabile che i proteici (quali colloidi) incontrano ad attraversare le membrane colloidi. Infatti attraverso le membrane semipermeabili di Traube e di Pfeffer passa l'acqua, ma non le piccole molecole dei sali minerali. In questo caso, sembrando difficile poter ammettere che il fenomeno sia dovuto alla differenza di grandezza fra le molecole dell'acqua e quelle dei sali, forse la causa del fenomeno risiede in un'azione reciproca esercitantesi fra

le molecole saline e la membrana. Ora le membrane colloidi di gelatina o di acido silicico possono essere considerate come membrane di PFEFFER, rispetto ai colloidi in soluzione, i quali forse non le attraversano, oltre che per la loro grandezza molecolare, anche per effetto di speciali azioni che si esercitano vicendevolmente fra le molecole proteiche e la membrana colloide. Le molecole saline invece passano attraverso le membrane colloidi, come le molecole d'acqua attraverso le membrane semipermeabili di PFEFFER.

§ 3. **Diffusione** [1]. **Dialisi.** — GRAHAM adottò poi, per lo studio della diffusione delle varie sostanze, le membrane animali e finalmente la pergamena artificiale, e chiamò **dialisi** la diffusione effettuantesi attraverso queste membrane. La differenza consiste solo in ciò, che nella dialisi la diffusione si fa attraverso uno strato **fisso** di sostanza colloide (la membrana animale o pergamenacea), invece di farsi attraverso uno strato instabile, come sarebbe se in uno stesso vaso si disponesse al di sopra dello strato della soluzione salina o di altro liquido uno strato di liquido colloide. Le sostanze saline disciolte passano attraverso uno strato colloide fisso con la stessa velocità che attraverso l'acqua pura, perchè il numero delle molecole colloidi formanti il setto (la membrana) è tanto piccolo in confronto di quello delle molecole acquose contenute nelle maglie (se ci è permesso di immaginarci così la struttura della membrana colloide), che non possono esercitare alcuna influenza sulla diffusione, la quale in realtà ha luogo attraverso le molecole acquose. Così che, mancando qualsiasi differenza di pressione dalle due parti della membrana, lo strato colloide può essere considerato come un setto rigido di acqua, che permette la diffusione nella stessa misura dell'acqua ordinaria, ma che però serve ad attenuare le correnti che tenderebbero a mescolare i due liquidi. Se però si eleva la pressione della soluzione salina o zuccherina, questa viene spinta con forza fra le maglie della membrana, spostando l'acqua, per passare dall'altro lato; la soluzione che si trova fra le maglie viene a sua volta forzata e spostata da nuove molecole della soluzione, e così ha luogo la filtrazione. La ragione della differenza tra la diffusibilità delle sostanze cristalloidi e quella delle colloidi, attraverso uno strato colloide, sembra, come abbiamo detto, che stia in ciò, o che gli spazi interstiziali di questo sono sufficientemente grandi per permettere il passaggio delle prime, ma troppo piccoli perchè possano essere attraversati dalle seconde, le cui molecole sono enormemente grandi, o che azioni specifiche ed ignote si esercitano fra le molecole del colloide e la membrana.

L'apparecchio di cui GRAHAM si servì chiamò **dializzatore**, ed era costruito in modo semplicissimo: era fatto, cioè, d'un cilindro cavo di vetro, più o

[1]) Della diffusione parleremo in modo speciale nel cap. della CELLULA (Parte seconda).

meno profondo, intorno ad una delle estremità del quale era fissato un foglio di pergamena artificiale o una membrana animale fresca. Nell'interno del cilindro, così convertito in vaso, metteva il liquido colloide, e immergeva l'estremità chiusa del medesimo in un vaso più grande pieno d'acqua. Tutte le sostanze cristalloidi passavano dal vaso cilindrico, attraverso la membrana, nell'acqua in cui questa era immersa, mentre le sostanze colloidi rimanevano dentro. Il liquido interno aumentava però di volume, perchè per una data

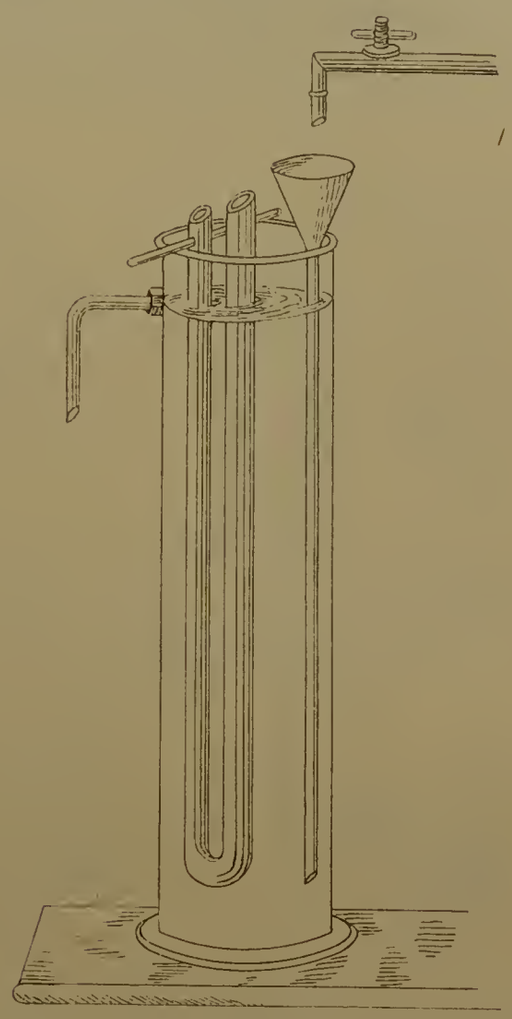


Fig. 11.

quantità in peso di sostanze cristalloidi che uscivano un dato volume di acqua entrava nel vaso cilindrico.

La forma dei dializzatori si può variare a volontà. Una delle più comode è quella del dializzatore di KUEHNE, qui riprodotta nella fig. 11 che si comprende senza bisogno d'essere illustrata. Disponendo vari dializzatori in serie, come ha fatto GAUTIER, si procede molto più rapidamente. Si possono anche adoperare molto più semplicemente dei tubi di pergamena artificiale o pezzi d'intestino di maiale disseccato e sgrassato, che si ripiegano ad U, si riempiono del liquido da dializzare e s'immergono in un vaso pieno d'acqua. È bene che l'acqua nel vaso esterno si rinnovi continu amente, quando non si debbano raccogliere le sostanze dializzate, e poichè una buona dialisi non dura meno di 4-7 giorni, sarà utile nei primi giorni dializzare verso acqua corrente di fonte, e solo da ultimo immergere il dializzatore in acqua distillata, che si rinnova 3-4 volte al giorno [1]). Se le sostanze contenute nell'interno del dai-

[1]) Un dializzatore speciale, per separare i prodotti della digestione mediante la dialisi, è l'apparecchio di KRONECKER descritto e disegnato in *Beiträge zur Anat. u.*

lizzatore vanno soggette a putrefazione, è necessario aggiungervi alcuni cristalli di timolo, di tanto in tanto. Oltre all'acqua si può aver occasione di adoperare nella dialisi liquidi diversi dall'acqua, come p. e. l'alcool, ecc.

Prendendo l'H O come unità, si può anche determinare il grado e l'intensità della diffusibilità, che è diversa per le diverse sostanze. Si trova allora che esiste un rapporto costante fra il peso o il volume dell'acqua che passa nell'interno del dializzatore e il peso della sostanza che ne esce. **Il peso dell'acqua distillata che sostituisce un grammo di sostanza dicesi equivalente endosmotico.** Questo dipende dalla natura della sostanza e dalla concentrazione della sua soluzione. Per fare queste determinazioni bisogna però con-

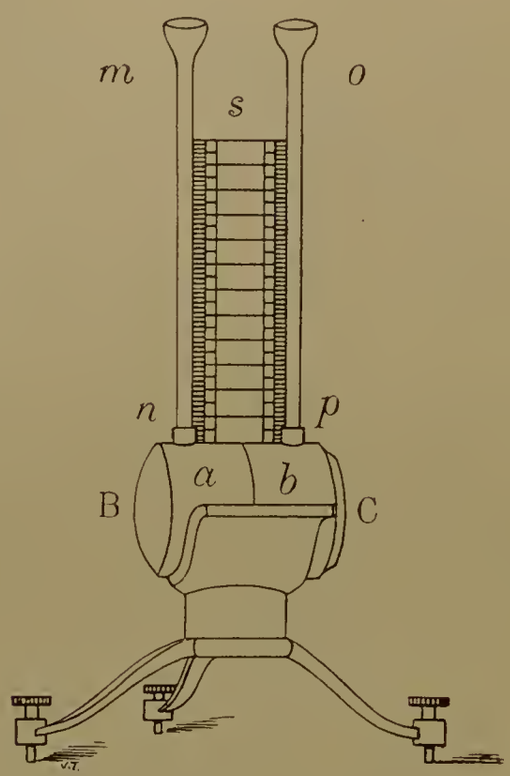


Fig. 12.

vertire il comune dializzatore in un apparecchio misuratore, che DUTROCHET chiamò **endosmometro** [1]).

Esso consiste d'un dializzatore, cui è applicato superiormente un tubo di vetro, accanto al quale trovasi una scala, sulla quale si legge l'altezza della colonna liquida. Una forma di endosmometro, che ha anche una certa importanza storica, è quella di MATTEUCCI (fig. 12), dal quale ne riportiamo la descrizione. *B* e *C* sono due recipienti cilindrici di ottone, i quali si uniscono tra di loro a sfregamento; *B* ha in *a* per parete una lamina parimenti d'ottone pertugiata, sulla quale si applica la membrana animale o pergamenacea; *C* ha una simile parete pertugiata, la quale, allorchè i due recipienti *B* e *C* sono riuniti, come nella figura, va a combaciare perfettamente con la membrana. In tal guisa quest'ultima non può cedere alla pressione che su di essa può esercitare quello dei due liquidi che è il più pesante, contenuto in uno dei due recipienti. *mn* ed *op* sono due tubi perfetta-

---

Physiol. (Festgabe f. C. Ludwig, 1874, pag. 130). Un altro speciale dializzatore costruito con lo stesso scopo e che permette di agitare il liquido che dializza è quello di S. LEA, descritto in *Journ. of Physiol.*, vol. XI, 1890, p. 227.

[1]) Per altre notizie sull'osmosi, ved. il cap. sulla CELLULA (Parte seconda).

mente calibrati; il primo comunica col recipiente *B*, l'altro col recipiente *C*. Volendo servirsi dello strumento, si comincia dal mettere il liquido più denso in *B* e riempirne il tubo *mn* fino ad una certa altezza: si riempie *C* di acqua distillata, e quindi lo si unisce all'altro recipiente *B*, sott'acqua; si stringono i due recipienti con una vite, si livella lo strumento, e si mettono i due liquidi allo 0 della scala *sa*. Con questo strumento si ottengono contemporaneamente i valori dell'elevazione e dell'abbassamento dei due liquidi, per cui l'indicazione del fenomeno è resa tanto più distinta.

Nella tabella seguente sono dati gli equivalenti endosmotici di alcune sostanze:

cloruro sodico	gr.	4,0	d'H^2O
solfato sodico	»	11,0	»
solfato potassico	»	12,0	»
solfato di magnesio	»	11,5	»
acido solforico.	»	0,3	»
potassa caustica	»	200,3	»
alcool.	»	4,3	»
zucchero	»	7,2	» .

La differenza nella diffusibilità di varie sostanze si può anche calcolare in base al tempo che impiegano a diffondere nell'acqua. Si sono ottenuti così i seguenti valori relativi:

acido cloridrico	1
cloruro sodico.	2,33
saccarosio	7
solfato di magnesio. . . .	7
albumina	49
caramella	48.

Ovvero si possono semplicemente confrontare le varie elevazioni della colonna liquida, espresse in millimetri, nel tubo dell'endosmometro. Così faceva il MATTEUCCI, il quale eseguì un numero grandissimo di determinazioni con membrane animali di varia specie, dalle quali resultò, come da altre esperienze, che la pressione del liquido montante (nell'endosmometro di DUTROCHET con membrana orizzontale, non nell'endosmometro di VIERORDT con membrana verticale, nè in quello di MATTEUCCI) altera il fenomeno, facendovi intervenire la filtrazione del liquido stesso attraverso la membrana, e che la diffusibilità dipende dalla concentrazione della soluzione e dalla natura della sostanza disciolta. Il MATTEUCCI inoltre, molto prima [1]) di ECKHARD (1866) e di WAIMOUTH REID (1890), mise in evidenza l'influenza che sul fenomeno hanno lo stato fisiologico e la

[1]) La seconda edizione del libro di MATTEUCCI (*Lezioni sui fenomeni fisico-chimici dei corpi viventi*) è del 1847.

natura della membrana. Mi piace riferire testualmente le parole dell'illustre scienziato:

« 1.° La membrana intermedia ai due liquidi nel fenomeno dell'endosmosi ha una parte attiva nella intensità della corrente endosmometrica, non che nella sua direzione.

2.° Vi ha in generale una tal posizione per ciascuna membrana, data la quale l'endosmosi è più intensa; e pochissimi e rari sono i casi in cui con una membrana fresca l'endosmosi si fa egualmente, qualunque sia la sua disposizione relativamente ai due liquidi.

3.° Il senso più favorevole per l'endosmosi attraverso le pelli è in generale dalla faccia interna all'esterna, ad eccezione della pelle di ranocchio colla quale l'endosmosi tra l'acqua e l'alcool è favorita dalla faccia esterna alla faccia interna. (Per contro, W. Reid ha trovato recentemente inesatto questo risultato di Matteucci, perchè, secondo lui, la corrente osmotica si stabilisce dall'esterno all'interno).

4.° Il senso favorevole per l'endosmosi attraverso gli stomachi e le vesciche urinarie varia maggiormente che colle pelli secondo i diversi liquidi.

5.° **Il fenomeno dell'endosmosi è in uno stretto rapporto collo stato fisiologico delle membrane.**

6.° **Colle membrane secche o alterate per putrefazione, o non si osservano più le solite differenze secondo la posizione delle facce delle medesime, o non succede endosmosi.**

7.° La rapidità dell'endosmosi era grandemente accresciuta allorchè uno dei liquidi si rinnovava ».

Vogliamo dare anche un esempio delle esperienze del Matteucci, in questo quadro:

Acqua zuccherata	pelle di torpedine. . .	100 mm.
	» di ranocchio. . .	25 »
	» di anguilla . . .	15 »
Acqua albuminosa	pelle di torpedine. . .	30 »
	» di ranocchio. . .	15 »
	» di anguilla . . .	8 »
Soluzione di gomma . . .	pelle di torpedine. . .	120 »
	» di ranocchio. . .	22 »
	» di anguilla . . .	6 »
Alcool	pelle di torpedine. . .	35 »
	» di ranocchio. . .	80 »
	» di anguilla . . .	55 »

« La vita della cellula — egli dice infine — che è pure l'organo elementare di tutti i tessuti vegetali ed animali, deve di certo comprendere un caso d'endosmosi, lo che fa intravedere quanto debba ancora studiarsi questo fenomeno onde l'applicazione intera venga fatta ».

Con un apparecchio più complicato [1]), e anche servendosi dell'endosmometro di DUTROCHET, W. REID è venuto più tardi a risultati che in parte confermano quelli di MATTEUCCI. Egli ha inoltre trovato che le condizioni o gli agenti deprimenti la vitalità della membrana diminuiscono l'intensità della corrente endosmotica nella direzione normale, mentre gli agenti stimolanti l'aumentano. Secondo l'Autore, la causa del più facile trasporto del liquido dalla superficie esterna all'interna probabilmente risiede in una forza « assorbsiva », dipendente dall'attività protoplasmatica e comparabile alla forza « secretiva » delle cellule glandolari.

§ 4. **Imbibizione.** — Un altro fenomeno fisico, che è in intimo rapporto con la natura propria delle sostanze colloidi, è il fenomeno dell'**imbibizione.** Questa deve precedere ogni fenomeno chimico, e quindi ogni espressione funzionale dell'attività propria della sostanza vivente, specialmente per quanto riguarda i fenomeni di nutrizione intracellulare. Nelle sostanze colloidi che costituiscono la trama fondamentale dei nostri tessuti debbono essere continui i fenomeni di imbibizione, per parte dei succhi che le bagnano.

È per questa ragione che vogliamo qui brevemente ricordare le leggi principali che regolano questo importante fenomeno fisico, in generale trascurato e poco conosciuto in ciò che esso ha di veramente scientifico.

Definizione e leggi dell'imbibizione. — Col nome d'**imbibizione** s'intende comunemente significare l'assunzione di liquido da parte di un corpo solido, senza che si verifichi una modificazione chimica di questo. Essa è accompagnata da un aumento di peso, e, nella massima parte dei casi, se non sempre, anche da un aumento di volume del corpo solido. Ordinariamente, però, sotto il nome di imbibizione si comprendono tre processi differenti, che meritano d'essere rigorosamente distinti l'uno dall'altro:

1. Una massa porosa assume liquido entro spazi vuoti preformati e aperti all'esterno, e per ciò ripieni per lo più di aria; questa dicesi **imbibizione capillare** (FICK), ed ha luogo, p. e., nell'imbeversi d'acqua d'una massa argillosa.

2. Una massa porosa assume acqua in spazi preformati, chiusi, ripieni di sostanze solubili o di liquido, per endosmosi; questa dicesi **imbibizione per endosmosi**, e si riscontra in tutti i tessuti vegetali e animali, che sono composti di elementi chiusi da membrane semipermeabili. L'aumento di volume dell'elemento cellulare che s'imbeve di acqua è da paragonare, dovunque, a quello che subisce una vescica animale ripiena di una soluzione salina e immersa in acqua pura.

3. Una massa omogenea, priva di pori, assume anche acqua o altro liquido, aumentando di volume: **imbibizione molecolare** (FICK). Questa si osserva nei processi d'imbibizione e di rigonfiamento che presentano alcune sostanze chimiche, come la gelatina e la colla, le varie specie di muco vegetale e animale, le sostanze proteiche insolubili, ecc.

---

[1]) Un'altra forma di endosmometro è quella dell'apparecchio descritto recentemente da LAZARUS BARLOW (ved. Bibliografia).

Durante l'immersione, p. e. in acqua, di un tessuto vegetale o animale, si possono verificare le due ultime specie di imbibizione. Così, p. e., un muscolo immerso in H^2O non assume acqua per **imbibizione capillare**, perchè gli spazi esistenti fra le singole fibre muscolari non possono essere considerati come spazi vuoti o pieni d'aria; i singoli elementi istologici dovrebbero però assumerne per imbibizione molecolare; ma la massima parte dell'acqua penetrata nel muscolo, che si è così molto rigonfiato, è stata assunta per **imbibizione endosmotica**.

Di queste tre specie d'imbibizione, l'imbibizione capillare segue le leggi della tensione superficiale [1]), l'imbibizione endosmotica quelle dell'osmosi. L'imbibizione molecolare è un processo *sui generis*, appartenente alla grande classe, importante ma sinora poco studiata, dei **fenomeni di assorbimento** (nel senso fisico della parola): essa si può considerare come l'imbibizione per eccellenza, e, secondo PACINI, come l'unica che si verifica negli organismi. Ecco come si esprime infatti questo Autore: « Non è dunque una **porosità preesistente** la condizione che nei solidi organici dà luogo alla loro imbibizione acquosa, ma è bensì evidentemente la loro grande e ben nota **affinità per l'acqua**, affinità che, a guisa di una **punta perforante**, precede e fa strada al fluido fra le molecole coerenti del solido, sforzando la loro coesione, e così aprendogli una via che prima non esisteva. »

Le leggi dell'imbibizione (molecolare) si possono riassumere nel modo seguente:

1. Un corpo capace di imbeversi, immerso nell'acqua p. e., ne assume una quantità definita, che non va oltre un limite superiore, detto **massimo d'imbibizione o di rigonfiamento** (C. LUDWIG).

2. Il **massimo d'imbibizione** dipende dalla natura chimica del corpo come dalla natura del liquido, dalla coesione ed elasticità del corpo che si rigonfia, dalla temperatura e dall'attrito interno del liquido (C. LUDWIG).

3. Il potere di refrazione di un corpo che s'imbeve di liquido (cilindro di colla, lente del cristallino) aumenta dall'esterno all'interno secondo una legge parabolica (L. MATTHIESSEN, A. SCHWARZ).

4. Il volume del corpo imbevuto è minore della somma del suo volume primitivo più il volume del liquido assunto. L'imbibizione è, dunque, accompagnata, in complesso, da una diminuzione di volume (QUINCKE).

5. L'imbibizione è regolarmente accompagnata da sviluppo d'energia termica (DUVERNOY, E. WIEDEMANN e LUEDEKING).

6. Il **massimo d'imbibizione** (P) è raggiunto tanto più presto, quanto più piccolo è lo spessore del corpo che s'imbeve (d) e quanto maggiore è il tempo (t) stabilito nella ricerca, come risulta dalla seguente formola di HOFMEISTER, per sottilissime piastrine di gelatina o di agar tagliate in forma regolarissima:

$$(1)\quad W = P\left(1 - \frac{1}{1 + \frac{c}{d} t}\right),$$

in cui W rappresenta il peso di acqua assunto da una determinata quantità in peso di sostanza in t minuti, P il **massimo di imbibizione** per la temperatura scelta e costante, c una costante calcolata dalla serie delle ricerche, e d lo spessore della piastrina nello stato di massimo rigonfiamento espresso in millimetri.

Se $t = \infty$ o $d = 0$, la (1) diventa

$$(2)\quad W = P,$$

vale a dire, piastrine infinitamente sottili raggiungono istantaneamente il massimo di imbibizione, mentre piastrine di spessore misurabile si avvicinano a questo massimo senza raggiungerlo altro che in un tempo infinito.

---

[1]) Ved. nel cap. della CELLULA (Parte seconda).

7. HOFMEISTER ha inoltre stabilito che P (il massimo di imbibizione) dipende, almeno:

a) dall'attrazione specifica che esercitano le particelle di gelatina o d'agar sull'acqua, e che è eguale per un'eguale temperatura:

b) dalle condizioni di elasticità delle singole piastrine, poichè l'intromissione delle particelle d'acqua tra le particelle di agar determina un aumento di volume della piastrina, cioè un allontanamento delle prime fra loro, cui si oppone l'elasticità della sostanza.

8. Dalla (1) segue che, se $t = 0$, nell'inizio dell'esperimento, $W = 0$; e inoltre che la velocità dell'assunzione dell'acqua v è

$$(3)\quad v = \frac{\partial W}{\partial t} = \frac{P\frac{c}{d}}{\left(1 + \frac{c}{d}t\right)^2},$$

e poichè $\dfrac{P}{1 + \frac{c}{d}t} = P - W$, ne segue che $v = (P - W)\dfrac{\frac{c}{d}}{1 + \frac{c}{d}t}$.

Vale a dire, la velocità d'assunzione dell'acqua è proporzionale alla differenza (P — W), cioè è tanto minore quanto più vicina è la quantità già assunta al massimo d'imbibizione.

Nella seguente tabella sono contenuti i valori medi di P, $\frac{c}{d}$, d, c, determinati da HOFMEISTER in diverse serie di ricerche:

Ricerche	P	$\frac{c}{d}$	d (in mm.)	c
A	5,62935	0,15348	0,600	0,092
B	5,2346	0,192	0,578	0,111
C	5,2346	0,218	0,549	0,120
D	5,2346	0,26	0,3949	0,103
E	6,1977	0,28	0,367	0,103
F	6,1977	0,72	0,128	0,092
G	6,1977	0,14	0,764	0,107
				0,104 media

§ 5. Dalle ricerche di HOFMEISTER sull'imbibizione molecolare di sostanze colloidali (gelatina, agar) in soluzioni saline, resultano i seguenti fatti:

1. L'aumento in peso dei dischi di gelatina immersi in soluzioni saline normali è notevole nei primi giorni, poi diminuisce con la durata dell'esperimento, cosicchè l'aumento in peso giornaliero diventa sempre minore.

2. L'imbibizione dei corpi colloidi in soluzioni saline dipende in primo luogo dal potere di attrazione per l'acqua dei sali disciolti.

3. **L'imbibizione in acqua pura è minore di quella che ha luogo nelle soluzioni dei sali (degli acidi monobasici).**

I sali possono essere ordinati nei seguenti gruppi, per rapporto al loro potere crescente di favorire l'imbibizione:

a) solfato sodico, tartrato sodico, citrato sodico;
b) acetato sodico (alcool, glicosio, saccarosio);
c) (acqua);
d) cloruro di potassio, di sodio, di ammonio.
e) clorato di sodio, nitrato di sodio, bromuro di sodio.

Ciò dimostra che questa proprietà dei sali è in accordo con le altre proprietà colligative dei medesimi. Se s'immerge la gelatina già rigonfiata in una soluzione salina, può accadere che ceda acqua e si retragga.

Stando, però, ad alcune osservazioni di RINGER, bisognerebbe ammettere una differenza fra i differenti sali a questo riguardo. Il RINGER osservò infatti che, mentre i sali di Na o K non esercitano alcuna azione sul rigonfiamento della laminaria immersa in H^2O, una piccola quantità di sale di Ca basta ad inibire di molto questo fenomeno puramente fisico.

Fatte alcune ricerche con uno di questi sali, il cloruro sodico, HOFMEISTER ha ottenuto i seguenti importanti resultati:

1. Gli aumenti di peso del corpo colloide immerso in soluzioni di Na Cl per 48-72 ore sono imputabili in parte all'assunzione di acqua, in parte all'assunzione del sale. Tanto l'una che l'altra dipendono, in diverso modo, dalla concentrazione della soluzione salina.

2. L'assunzione di acqua si eleva con l'aumento della concentrazione della soluzione salina sino a un punto determinato, e s'abbassa con l'aumentare della concentrazione oltre questo punto. Il *maximum* corrisponde ad una soluzione 13,79 % di Na Cl.

3. Anche l'assunzione del sale si eleva con l'aumento della concentrazione, ma rimane sempre approssimativamente proporzionale a questa.

4. La presenza del sale favorisce l'assunzione dell'acqua in misura tale che, entro limiti larghi, essa è maggiore che nell'imbibizione in pura acqua.

5. Il contenuto salino della soluzione che imbeve la sostanza colloide è, nel caso di una durata sufficiente dell'immersione, di poco inferiore o eguale a quello della soluzione primitiva.

6. La gelatina già rigonfiata, imbevuta d'acqua, assume dalla soluzione salina, relativamente più sale che acqua. La concentrazione della soluzione che penetra nel corpo colloide, in tal caso, è sempre superiore a quella della soluzione in cui fu immerso.

Tutte queste osservazioni mostrano che la soluzione non penetra come tale, senza modificazione della sua concentrazione, nella gelatina che si rigonfia, ma che questa esercita, in tali condizioni, una sua speciale proprietà elettiva.

I sali degli acidi polibasici (tartrato sodico neutro) si comportano allo stesso modo. Anche qui si verifica un'assunzione di acqua e di sale da parte della gelatina, indipendentemente l'una dall'altra. Anche qui il massimo di rigonfiamento ha luogo a una data concentrazione della soluzione (4 %), al di sopra e al di sotto della quale l'assunzione di acqua è minore. Anche qui la quantità di sale assunto dalla gelatina è approssimativamente proporzionale alla concentrazione della soluzione salina, e il rigonfiamento è maggiore che in acqua pura.

Ma non solamente i sali minerali favoriscono l'imbibizione dei corpi colloidi; anche lo zucchero e l'alcool agiscono egualmente.

Che la gelatina assuma da una soluzione salina indipendentemente il sale e l'acqua, e che per ciò questa non vi penetri passivamente ma per una proprietà elettiva del colloide, è dimostrato esuberantemente dalle esperienze di HOFMEISTER sulle sostanze coloranti.

Una placca di gelatina, immersa in una soluzione acquosa di violetto di metile, assume 30 volte più sostanza colorante che acqua, e la quantità assunta aumenta con la concentrazione della soluzione, anche se la quantità assoluta di sostanza disciolta è la stessa.

Finalmente, anche le esperienze instituite sul rigonfiamento (sull'imbibizione) di membrane animali prima disseccate e poi immerse in soluzioni saline, hanno dimostrato che gli stessi due momenti fondamentali: — l'attrazione specifica sull'acqua del sale disciolto, e determinate relazioni di affinità fra la sostanza colloide e il sale disciolto — sono qui in giuoco, come nelle esperienze sui dischi di gelatina.

Quale interpretazione adeguata si può ora dare dei fenomeni dianzi descritti?

Abbiamo visto che, immergendo un disco di sostanza colloide secca nella soluzione acquosa di un corpo A, possono verificarsi diversi casi:

1. il colloide può assumere acqua e sostanza disciolta nella stessa proporzione, in guisa che viene ad essere imbevuto d'una soluzione che ha la medesima concentrazione di quella esterna (ciò accade nelle soluzioni saline);

2. o può assumere del corpo A più che dell'acqua, così che il liquido che imbeve il disco ha una concentrazione superiore al liquido esterno (ciò accade nelle soluzioni di sostanze coloranti);

3. la presenza del corpo A può aumentare l'assunzione di acqua (come nelle soluzioni poco concentrate saline e alcooliche);

4. ovvero la può diminuire (come nelle stesse soluzioni fortemente concentrate).

In altre parole, **l'assunzione del solvente e della sostanza disciolta avvengono indipendentemente, e possono favorirsi o inibirsi fra loro,**

avvengono indipendentemente, possono favorirsi o inibirsi fra loro. Interessanti sono anche i due casi estremi: quando cioè un corpo che si rigonfia assume solamente acqua e non una determinata sostanza disciolta (come nel caso delle membrane semipermeabili di precipitazione di PFEFFER), e quando solo la sostanza disciolta e non l'acqua penetra nel corpo (come nell'**adsorbimento** di sostanze disciolte da parte di corpi solidi, p. e. il carbone).

§ 6. Per spiegare i fenomeni multiformi che si osservano nell'imbibizione, nel rigonfiamento dei corpi colloidi, HOFMEISTER ammette l'intervento di speciali **forze attrattive** fra le particelle del corpo rigonfiantesi e quelle del liquido o d'una soluzione. Queste forze attrattive non possono essere di natura puramente meccanica, perchè i fenomeni dipendono dalla qualità chimica delle sostanze messe in presenza le une delle altre; ma non sono nemmeno identiche alle affinità chimiche, perchè non portano alla formazione di combinazioni chimicamente definite.

Simili processi, imputabili a speciali forze attrattive, che non sono nè meccaniche nè chimiche, sono però frequenti in natura ed hanno un'importanza straordinaria negli organismi viventi. Per maggior chiarezza, ricordiamone alcuni:

a) L'assorbimento di gas da parte di liquidi è diverso per i diversi gas, e dipende dalla pressione e dalla temperatura, senza essere un fenomeno puramente meccanico, nè chimico, perchè non ha luogo formazione di combinazioni chimiche secondo le leggi dei rapporti semplici di massa.

b) Due liquidi possono disciogliersi l'uno nell'altro, in proporzione dipendente solamente dalla temperatura (e dalla pressione).

c) La proprietà dei solidi di attrarre e addensare alla loro superficie i gas non ha nulla da fare con l'affinità chimica, e trovasi in relazione solo con la temperatura e con la pressione.

d) La proprietà dei solidi di lasciarsi bagnare dai liquidi, che dipende dalla qualità chimica dei primi e dei secondi, ma in cui non interviene alcuna affinità chimica. Così anche, se le particelle del solido disgregandosi si disseminano fra quelle del liquido, si ha soluzione; se il liquido penetra nel solido, si ha imbibizione, rigonfiamento: i due fenomeni dipendono dalla temperatura, ma non dall'affinità chimica.

e) L'adsorbimento di sostanze disciolte da parte di un corpo immerso nella soluzione, p. e. delle sostanze coloranti da parte del carbone animale, varia molto secondo la qualità delle sostanze, ma non è possibile una spiegazione del fenomeno per la formazione di semplici combinazioni chimiche; esso dipende dalla concentrazione della soluzione (OSTWALD). Questa classe di fenomeni è straordinariamente ricca.

I casi ricordati mostrano che fra i gas, i liquidi e i solidi agiscono delle forze attrattive, che non sono, come dicemmo, nè di natura puramente meccanica nè analoghe all'affinità chimica, perchè non seguono la legge delle proporzioni costanti o multiple. Si può però ammettere numerosi passaggi dalle combinazioni « meccaniche », che hanno luogo nell'imbibizione e nell'adsorbimento, alle vere combinazioni chimiche. Già LIEBIG riconobbe l'esistenza di queste speciali combinazioni, quando affermò che « la combinazione chimica è solo uno degli effetti dell'affinità ». A designare i fenomeni speciali che si verificano nell'assorbimento dei gas, nella diffusione, nell'imbibizione, nell'adsorbimento, fenomeni che, secondo OSTWALD, « rappresentano un completo passaggio dai processi meccanici ai processi chimici », l'espressione migliore è quella proposta dall'OSTWALD medesimo, e accettata anche dall'HOFMEISTER; l'espressione, cioè, di **fenomeni dovuti all'« Affinità meccanica »**.

§ 7. Dalle ricerche di HOFMEISTER sull'imbibizione dei corpi colloidi seguono inoltre questi corollari, riguardanti la cellula vivente:

1. Mediante i processi di assunzione e di sottrazione di acqua, possono verificarsi rapidissime modificazioni della forma e composizione chimica delle cellule viventi.

2. L'assunzione di acqua avviene tanto più rapidamente, quanto più sottile è la membrana che s'imbeve, o, per corpi di altra forma, quanto maggiore è la superficie in rapporto al contenuto.

3. Ora s'intende l'azione rapidamente distruttiva dell'H^2O sopra gli organismi unicellulari: i processi d'imbibizione in spazi così piccoli avvengono con una rapidità straordinaria.

4. Ora si spiega anche perchè tutte le membrane omogenee, che permettono l'osmosi, si rigonfiano in quel liquido, cui permettono il passaggio. Una modificazione della concentrazione della soluzione che si diffonde deve prima avere per conseguenza una modificazione dello stato d'imbibizione della membrana, un adattamento alle nuove condizioni, prima che si verifichi una modificazione nella concentrazione del liquido che si diffonde. Quando parleremo del protoplasma, avremo ben occasione di utilizzare queste nozioni apprese nelle ricerche sui caratteri delle sostanze colloidi, onde ci riserbiamo di tornarvi su in quel capitolo, in cui dovremo anche tornare ad occuparci delle proprietà chimico-fisiche delle soluzioni saline e dei corpi colloidali.

Intanto riprendiamo lo studio speciale di questi corpi, le cui proprietà tanto interessano il chimico-fisiologo.

§ 8. **Caratteri generali dei colloidi.** — I corpi colloidi presentano tante differenze fra loro, quante ne presentano i cristalloidi, sia per la loro origine, sia per la loro solubilità, come per la stabilità

delle loro soluzioni. Gli uni sono solubili, come l'albumina, la gomma, il tannino, la gelatina; altri si presentano in forma di masse insolubili, rigonfiantisi nell'acqua senza sciogliersi, come la fibrina, la gomma adragante; alcuni sono d'origine minerale, come la silice, l'allumina, l'idrato di ferro, ecc., altri d'origine organica, come quelli dianzi nominati.

Quando i corpi colloidi sono disciolti, si trovano in una condizione estremamente instabile; per influenza di cause minime essi passano allo stato **pectoso**, coagulano, denaturandosi, poichè la massima parte di essi non possono più ridisciogliersi nel liquido, in seno del quale si sono coagulati. Così che il loro stato solubile è transitorio, e non vi tornano dopo averlo abbandonato. Ciò accade, p. e., della silice, dell'idrato ferrico, dell'albumina.

Le cause che operano questo cambiamento di stato sono: l'aggiunta d'una traccia d'un corpo estraneo, una lieve elevazione di temperatura; talora il cambiamento è spontaneo, ossia ha luogo per cause che noi non siamo in grado di apprezzare, pur sapendo che il tempo è un fattore indispensabile. Dei liquidi colloidi rimangono limpidi per ore, giorni, settimane; a un tratto s'ispessiscono, diventano viscosi, coagulano. Ma in essi avvengono poi altre reazioni intime, perchè in seguito il coagulo si contrae. Alcune altre sostanze colloidi, invece, dopo essersi coagulate, non hanno perduto la loro solubilità nell'acqua; così, la gelatina si ridiscioglie scaldando il liquido in cui si è rappresa nel raffreddamento.

§ 9. **Classificazione dei colloidi.** — Secondo GRIMAUX, le sostanze colloidi, organiche e minerali, possono classificarsi nel modo seguente:

A) **Colloidi solubili che dànno precipitati dissolventisi a caldo:** gelatina, condrina, acido tungstico colloidale.

B) **Colloidi solubili che si pectizzano per cause minime, e i cui precipitati sono insolubili:** albumina, silice gelatinosa, allumina, idrato ferrico, ecc. È la classe più importante, di cui specialmente ci occuperemo in seguito.

C) **Colloidi insolubili rigonfiantisi nell'acqua:** proteine denaturate, caseina precipitata, fibrina, miosina, ecc.

Avendo ricordato i principali colloidi minerali (nel capitolo delle SOSTANZE MINERALI) e i colloidi organici (nei rispettivi capitoli sulle SOSTANZE ORGANICHE), ci resta qui a descrivere i colloidi ottenuti per sintesi, per poi trattare delle proprietà di precipitazione e coagulazione, delle reazioni colorate dei colloidi in generale, e finalmente di una singolare proprietà fisiologica, di recente scoperta, di alcuni di essi.

§ 10. **Colloidi ottenuti per sintesi.** — GRIMAUX, proseguendo lo studio della sintesi delle sostanze proteiche, pervenne ad ottenere artificialmente tre colloidi, per tre vie diverse.

1. Il **colloide amidobenzoico,** o colloide *A*, fu ottenuto, scaldando in tubi chiusi a 125° C l'acido metamidobenzoico con 1,5 p. in peso di pentacloruro di fosforo, per 1 $^1/_2$ ore. Il prodotto della reazione, che è una polvere bianca friabile, fu lavato ripetutamente con acqua bollente; esso fu ritenuto da GRIMAUX come un'anidride intramolecolare formata dall'unione di più molecole di acido metamidobenzoico, con eliminazione di acqua. Questa sostanza amorfa, messa a digerire nell'NH^3, vi si rigonfia e poi man mano si scioglie. Evaporata nel vuoto, questa soluzione dà come residuo delle scaglie translucide, gialle o brunastre, aventi l'aspetto della sieralbumina disseccata.

2. Il colloide *B* è preparato nello stesso modo; ma durante la sua preparazione la temperatura è portata a 135° C.

3. Il **colloide aspartico,** o colloide *C*, è preparato, facendo passare una corrente di NH^3 gasosa, scaldata a 170° C, sopra l'anidride aspartica solida. Il prodotto della reazione, lavato con acqua, dopo l'evaporazione nel vuoto, si presenta con un aspetto simile a quello del colloide *A*.

§ 11. **Reazioni dei colloidi.** — Le reazioni chimiche di questi tre colloidi, studiate prima dallo stesso GRIMAUX, e recentemente da PICKERING, hanno dato i seguenti resultati:

1.° I colloidi ottenuti per sintesi presentano molte delle reazioni chimiche, finora credute caratteristiche delle sostanze proteiche, o dei derivati della loro scomposizione. Secchi, somigliano a sieroalbumina disseccata, e dànno, con acqua distillata, soluzioni opalescenti color paglierino pallido.

2.° Tutti dànno una tipica reazione xantoproteica. Con $Cu\,SO^4$ e KOH il colloide *A* dà un bel colore blu-violetto, il colloide *B* un resultato negativo, il colloide *C* una colorazione violetta tipica (reazione del biureto). Con $Cu\,SO^4$ e KOH il colloide *C* dà una colorazione rosso-bruna, mentre con $Ni\,SO^4$ e KOH ne dà una giallo-pallida. In un altro colloide, ottenuto per sintesi, GRIMAUX osservò la reazione xantoproteica, del biureto e di MILLON.

4. I colloidi non coagulano in assenza di sali, nemmeno a temperatura altissima; se però vi si aggiunge una traccia di sale solubile di Ba, Sr, Ca, comparisce un'opalescenza a 50° C e una completa coagulazione a 75° C. Certi altri sali hanno l'ufficio delle terre alcaline nella coagulazione da calore.

5. Questa è ritardata dall'aggiunta di acetato sodico, solfato sodico o da un eccesso di glicerina. Il passaggio di una corrente di CO^2 o di SO^2 fa ritornare la coagulabilità abolita dall'eccesso di glicerina.

6. I colloidi precipitano (propriamente si raccolgono alla superficie libera del liquido) saturando le loro soluzioni con $Mg\,SO^4$, $(NH^4)^2\,SO^4$, $Na\,Cl$; poi facilmente si ridissolvono in un eccesso di acqua distillata.

7. L'acqua bollente rende questi colloidi insolubili; ma i coaguli trattati con NH^3 ed evaporati nel vuoto riacquistano la loro solubilità, rigenerandosi in corpi presentanti tutte le reazioni dei colloidi originali.

8. L'CO^2, in presenza di sali, precipita i detti colloidi, che sono poi ridisciolti da una corrente d'aria: essi si comportano come le globuline.

9. Il colloide *B*, a quanto sembra, non è digerito da pepsina e HCl 2 ‰, mentre il colloide *A* è rapidamente digerito. Anche il colloide *C* è considerevolmente digerito da pepsina e HCl 2 ‰, e il colore violetto tipico del colloide non digerito si cambia in un colore rosa brillante, dopo due giorni di digestione, trattando il liquido con $Cu\,SO^4$ e KOH. Dopo lo stesso tempo, il $Ni\,SO^4$ e la KOH davano anche un colore arancio (formazione di corpi analoghi a proteosi o peptoni).

10. Ciascuno dei tre colloidi, iniettato nel sangue, produce abbondante coagulazione intravasale nei conigli (non nei conigli albini), cani, gatti, cavie e topi.

Questo fatto, scoperto da PICKERING, fu ulteriormente studiato da HALLIBURTON e PICKERING, i quali trovarono:

a) che i detti colloidi non distruggono il rivestimento endoteliale dei vasi, nè alterano apparentemente i corpuscoli del sangue;

b) che piccole dosi di sostanza inducono la così detta « fase negativa », nei cani (ved. Coagulazione del sangue);

c) che la morte, accompagnata da spasmi, esoftalmo, midriasi ecc.. è prodotta dall'azione dei colloidi sul centro respiratorio;

d) che se i colloidi sono tenuti per un certo tempo in soluzione acquosa perdono la loro attività fisiologica di coagulare il sangue;

e) che l'CO^2 e i sali solubili di Ca favoriscono quest'azione dei colloidi;

f) che, se il colloide è precipitato con acido acetico e poi ridisciolto in $Na^2\,CO^3$, la soluzione fresca agisce come la soluzione originale; lo stesso si verifica col colloide rigenerato dall'azione dell'NH^3 su quello denaturato dall'acqua bollente;

g) che l'azione ritardante del sapone e dell'ossalato di potassio sulla coagulazione del sangue è neutralizzata da un'iniezione di colloide:

h) che l'introduzione nel sangue di glicerina, che produce leucolisi, non impedisce l'azione coagulante del colloide.

La straordinaria somiglianza fra questi colloidi *A*, *B* e *C* di GRIMAUX e i nucleoproteidi, in ciò che riguarda la loro azione coagulante sul sangue, attrae la nostra attenzione in modo speciale, e avvicina sempre più i colloidi medesimi alle sostanze proteiche in generale, con cui abbiamo visto che posseggono tante proprietà in comune.

11. I detti colloidi (in soluzione 2 %) sono precipitati da HCl, HNO^3, ossalico, tartarico, da acido acetico (un eccesso li ridiscioglie) e fer-

rocianuro potassico, dai sali dei metalli pesanti (Pb, Cu, Fe, Co, Ni), allontanati i quali con H^2S i colloidi tornano in soluzione, dall'acido tricloroacetico.

12. Sono in generale poco solubili in acqua fredda, solubilissimi in acqua distillata calda; le soluzioni sono opalescenti e colorate in giallo-paglia. Anche soluzioni 5 % sono poco più viscose.

Confrontati i colloidi ottenuti per sintesi coi colloidi proteici, e in base ai resultati che GRIMAUX ha ottenuto studiando le condizioni che determinano la loro coagulabilità, lo stesso Autore è giunto alla conclusione molto importante che la coagulazione di questi colloidi è insieme funzione del rapporto dell'acqua, dei sali disciolti nel liquido e della sostanza coagulabile; onde può accadere che una identica specie chimica presenti reazioni affatto differenti, secondo la quantità d'acqua in cui si trova sciolta.

Ma l'influenza di quelle condizioni apparisce ancora più evidente studiandole in rapporto ai colloidi minerali. Seguendo il GRIMAUX in questa descrizione, avremo anche occasione di vedere quali delle reazioni sopra esposte a proposito dei colloidi sintetici sono comuni ai colloidi minerali. Prendiamo degli esempi.

§ 12. **Colloidi minerali.** — **L'idrato ferrico,** preparato non per dialisi, secondo il metodo di GRAHAM, ma trattando con H^2O l'etilato ferrico, che si forma facendo agire una soluzione di cloruro ferrico in alcool assoluto sopra l'etilato di sodio, quando è diluito con H^2O, coagula spontaneamente, in capo a un certo tempo, che è tanto più lungo quanto maggiore è stata la quantità d'H^2O aggiunta. Notevole è l'influenza della temperatura sulla coagulazione dell'idrato ferrico, che è affrettata a temperature alte (60° C), ritardata a basse temperature, come la coagulazione spontanea del plasma sanguigno. Se però la diluzione ritarda la coagulazione dell'idrato ferrico solubile, della silice gelatinosa, del colloide amidobenzoico, dell'albumina e di altri colloidi ottenuti per sintesi, vi sono invece dei casi in cui la diluzione la favorisce.

L'arseniato di sodio, cui siano addizionate due molecole di percloruro di ferro, forma un liquido limpido, che coagula in una specie di gelatina densa sotto l'azione del calore, o in forma di gelatina trasparente se è sottoposto ad una dialisi prolungata. La soluzione di cellulosio nell'ossido di rame ammoniacale, liberata per dialisi dall'eccesso di NH^3 e dall'idrato di rame ammoniacale, è egualmente un colloide che coagula sotto l'influenza del calore, dell'aggiunta di sali neutri, e tanto più facilmente quanto è più diluita [1].

[1]) Lo stesso, forse, può dirsi dell'influenza della temperatura: sebbene temperature elevate provochino la coagulazione dei colloidi in generale, vi sono dei casi in

§ 13. **Teoria della coagulazione.** — Dai suoi studi sui colloidi organici, minerali e ottenuti per sintesi, GRIMAUX trae una teoria della coagulazione, che merita d'essere rammentata. **La coagulazione** — egli dice — **è un fenomeno di polimerizzazione o condensazione molecolare accompagnata da disidratazione della sostanza che coagula.** I sali favoriscono la coagulazione o determinano la precipitazione, perchè sottraggono acqua, perchè favoriscono la disidratazione. Si sa infatti che i sali favoriscono l'eterificazione, o, ciò che vale lo stesso, ritardano la saponificazione degli eteri. Che una soluzione salina possa appropriarsi l'acqua della soluzione d'un'altra sostanza (colloide o cristalloide), è poi dimostrato brillantemente da un'esperienza di ÉTARD: quando si aggiunge una soluzione di $Ca\,Cl^2$ a una soluzione rosa di $Co\,Cl^2$, questa prende il color blu del $Co\,Cl^2$ anidro.

Che la diluzione ritardi la coagulazione, si capisce, secondo quella teoria. Per quei corpi colloidi, al contrario, per i quali la diluzione affretta la pectizzazione, il fenomeno si spiega ammettendo che l'acqua favorisce la pectizzazione, quando per la sua quantità vince la forza di combinazione del corpo, che impedisce la polimerizzazione.

Confrontando le reazioni che, secondo GRIMAUX, avverrebbero nella coagulazione dei colloidi, con l'eterificazione, le cui leggi sono state stabilite da BERTHELOT, vediamo che il parallelismo può essere spinto molto oltre; nei due casi si stabiliscono degli equilibri chimici che dipendono dalla quantità d'acqua, dal tempo e dalla temperatura. Questa, infatti, affretta e favorisce tanto la coagulazione quanto l'eterificazione. Il fenomeno non è però invertibile: mentre gli eteri possono rigenerare l'acido e l'alcool per azione dell'H^2O, la silice, l'idrato ferrico, ecc. coagulati non si ridisciolgono più. Ciò non ostante la teoria di GRIMAUX è molto seducente e solidamente confortata di prove.

§ 14. **Precipitazione dei colloidi con sali.** — HOFMEISTER ha approfondito meglio la conoscenza dell'azione precipitante dei sali minerali sui corpi colloidi. Egli ha studiato, seguendo gli stessi metodi adoperati nelle sue ricerche sui corpi proteici, l'azione precipitante di soluzioni di molti sali sulla colla, sull'idrato ferrico colloidale e sopra soluzioni di saponi (oleato di sodio purissimo), determinando il limite inferiore di precipitazione.

---

cui una specie di pectizzazione si osserva a temperature bassissime. Così, p. e., noi abbiamo osservato il secreto lattiginoso dell'*Aplysia depilans* (ricchissimo di una mucina), rapprendersi in forma quasi solida sotto l'influenza di temperature molto basse (presso 0° C.); ed è noto che la glicerina a bassa temperatura diventa densa e simile a una sostanza coagulata, ecc. Con ciò non pretendiamo porre questi fenomeni, di natura forse puramente fisica, nella stessa categoria di quelli di cui qui si parla, ma abbiamo voluto ricordarli per la somiglianza apparente che essi presentano coi primi.

Per ciò che riguarda la colla, i resultati sono identici a quelli ottenuti per le globuline, come si vede dalla seguente tabella, per cui le stesse leggi, già sopra ricordate, che governano il potere di precipitazione dei vari sali, valgono per le proteine e per i corpi colloidi.

Tabella quarantaduesima.

	Litio	Sodio	Potassio	Ammonio	Magnesio
Solfato	9,2	n. p.	n. p.	12,3	14,7
Citrato	—	11,4	14,0	17,4	—
Tartrato	—	13,8	18,4	—	—
Acetato	—	17,1	26,1	n. p.	—
Cromato	—	21,1	24,4	n. p.	—
Cloruro	—	27,3	n. p.	n. p.	—
Nitrato	—	52,4	n. p.	n. p.	n. p.
Clorato	—	n. p.	n. p.	—	—

(n. p. = non precipita.)

Secondo HOFMEISTER, la causa della precipitazione dei colloidi per opera di questi sali minerali non sta in una loro combinazione chimica insolubile, perchè tanto la globulina, quanto la colla e l'oleato sodico presentano, dopo la precipitazione, le stesse proprietà di prima. L'idrato ferrico colloidale, invece, pare che si trasformi, quando è precipitato, in una combinazione basica dell'acido del sale aggiunto, poichè diventa insolubile. Rimane, dunque, ad ammettere l'azione disidratante dei sali, come causa della precipitazione: in ciò HOFMEISTER concorda con GRIMAUX. Del resto, si hanno esempi di precipitazione di sostanze minerali disciolte per opera di altre sostanze minerali: p. e. la precipitazione dei cloruri operata da un eccesso di HCl, dei nitrati causata da un eccesso di HNO^3, l'eliminazione di gas disciolti nell'acqua per parte di sali, l'uso dell'aggiunta di potassa per disidratare gli alcoli, la precipitazione del solfato, cloruro e nitrato di potassio ottenuta con l'aggiunta di acetato potassico, mentre d'altra parte il KCl precipita in parte il K^2SO^4, l'acetato sodico precipita il Na^2SO^4, il $Mg(NO^3)^2$ precipita il $MgSO^4$, e il $MgCl^2$ precipita in parte i cloruri di K, di Na e di NH^4. Ma, in questi casi, almeno stando alle ipotesi di ARRHENIUS, non si tratta veramente d'una sottrazione d'acqua alla soluzione del sale che precipita, bensì dell'azione dell'uno o dell'altro jone libero della sostanza che s'aggiunge, tendente a determinare la ricombinazione, e quindi la separazione in forma di sale, degli joni della sostanza già sciolta.

§ 15. Dalle numerose ricerche di HOFMEISTER sul potere molecolare di precipitazione dei sali seguono alcune conclusioni, riguar-

danti il caso speciale di precipitazione dei colloidi, tanto frequente in chimica fisiologica, molto importanti.

1. I valori del potere di precipitazione dei sali potassici degli acidi monobasici sono maggiori di quelli dei corrispondenti sali sodici, ed aumentano (fatta eccezione per gli acetati) col peso molecolare. Con ciò non si vuol dire che il potere molecolare di precipitazione dei sali degli acidi monobasici è sempre lo stesso; ma varia entro limiti molto stretti. In generale, i nitrati e i clorati presentano un potere di precipitazione minore di quello dei sali degli aloidi, e la differenza aumenta con la concentrazione.

2. Il potere di precipitazione dei sali degli acidi polibasici supera di poco quello dei sali degli acidi monobasici per quanto riguarda la globulina e la colla, lo supera dieci volte per l'idrato ferrico colloidale, e gli è notevolmente inferiore nel caso dell'oleato sodico. La ragione di questo fatto sta nella grande tendenza a dissociarsi dei sali polibasici.

Che le proprietà delle soluzioni saline dipendano dalla basicità del costituente acido e dalla valenza del costituente basico, è dimostrato da diversi fatti. In primo luogo, i sali alcalini degli acidi polibasici, in soluzioni equimolecolari, abbassano più fortemente il punto di congelamento dei corrispondenti sali degli acidi monobasici; e allo stesso modo si comportano i sali degli acidi monobasici con basi polivalenti verso i corrispondenti sali alcalini. In secondo luogo, dalle ricerche sulla viscosità delle soluzioni saline resulta la sua dipendenza dalla basicità del costituente acido del sale. Anche la conducibilità della corrente elettrica, secondo le ricerche di OSTWALD e di WALDEN, aumenta più con la diluzione nelle soluzioni di sali degli acidi bi- e tribasici, che in quelle di sali degli acidi monobasici; anzi questo fenomeno è così costante e regolare, che può essere usato a determinare la basicità degli acidi.

Se non che, l'aumento del potere disidratante che segue all'aumento del numero delle molecole operato dalla dissociazione, per ciò che riguarda i sali degli acidi polibasici (solfati, tartrati, cromati, citrati, fosfati), può essere mascherato o controbilanciato, per quanto si riferisce all'azione di questi sali sui colloidi, dall'azione specifica dei prodotti di dissociazione su questi corpi.

3. La parte che prendono le basi nell'azione disidratante dei detti sali è approssimativamente eguale, per un equivalente, negli alcali, nel Mg e nel Ca.

4. Ciò che finalmente dimostra che i fenomeni di precipitazione dei colloidi sono dovuti al potere disidratante dei sali e non allo stato cinetico delle molecole colloidi è il fatto che i corpi colloidi, in stato di semi- o forte pectizzazione, nel qual caso non si può loro applicare la teoria cinetica, presentano le stesse proprietà, specialmente

in ordine alla produzione d'una pressione osmotica, che i colloidi disciolti. Se infatti s'immagina una cellula di PFEFFER ripiena p. e. di gelatina di colla pectizzata e immersa nell'acqua, per effetto dell'imbibizione di questa deve prodursi una pressione osmotica, benchè le molecole della colla non siano dotate di libero movimento, e perciò non possano produrre l'aumento di pressione mediante urti contro la parete della membrana semipermeabile. In questo caso riappare piuttosto l'antica idea, secondo la quale le molecole di un corpo che si rigonfia si circonderebbero d'uno strato d'acqua, e la pressione osmotica sarebbe l'espressione e la misura dell'attrazione esercitata sull'acqua dalle particelle colloidi.

Ora non bisogna dimenticare che il rigonfiarsi e il disciogliersi d'una sostanza sono processi analoghi, che in alcuni corpi colloidi passano senza limite netto l'uno nell'altro. Per ciò è molto inverisimile che i due processi siano causati da momenti fisici essenzialmente diversi. D'altra parte, se la pressione osmotica di un volume di soluzione salina differisce da quella di un volume di gas contenente lo stesso numero di molecole, la ragione di ciò sta, è vero, in parte nella dissociabilità del sale disciolto, ma in parte anche in una speciale relazione fra le particelle saline e le particelle acquose, o in entrambe.

§ 16. **Viscosità delle soluzioni di colloidi.** — Un altro fatto che caratterizza i corpi colloidi è finalmente l'enorme viscosità (attrito interno) ch'essi conferiscono alle loro soluzioni, e che deve avere una grande importanza nella circolazione dei liquidi nell'organismo animale. Bisogna fare delle soluzioni fortemente concentrate (p. e. 15-20 % di Na Cl) per ottenere dei liquidi isoviscosi col siero di sangue. Tale enorme viscosità sembra dovuta alla complessità molecolare delle sostanze proteiche; infatti le soluzioni di proteine (siero di sangue, linfa) sono meno viscose delle soluzioni di proteidi (proteide della bile) e di nucleoalbumine (caseina del latte), e le soluzioni di proteosi e di peptoni sono meno viscose di quelle di proteine vere. Ciò ha forse, come dicemmo, qualche importanza nel fenomeno dell'assorbimento dei prodotti di digestione delle sostanze proteiche.

VII. — Bibliografia delle sostanze colloidi.

(924) 1837. DUTROCHET. *De l'endosmose. Mémoires pour servir à l'histoire anat. et physiol. des veget. et des animaux.* Bruxelles.

(925) 1855. FICK A. *Ueber Diffusion.* Poggend. Ann. d. Physik. Bd. XCIV, pag. 59-86.

(926) 1855. GRAHAM. *Sur la force osmotique.* Annales de chim. et de physique (sér. 3.ª), tom. CXX, p. 5-69.

(927) 1873. Pacini F. *Dei fenomeni osmotici e delle funzioni di assorbimento nell'organismo animale.* Lo Sperimentale, vol. XXXII, pag. 355-422, 481-526, 599-654.
(628) 1874. Pacini F. *Dei fenomeni e delle funzioni di trasudamento nell'organismo animale.* Firenze.
(629) 1879. Hefan. *Ueber die Diffusion der Flüssigkeiten.* Berichte d. Wien. Akad., Januar.
(630) 1879. Kossel A. *Ueber die chemischen Wirkungen der Diffusion.* I.e *Mitth.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 158-176.
(631) 1880. Kossel. A. *Ueber die chemischen Wirkungen der Diffusion.* II.e *Mitth.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 207-210.
(632) 1880. Gottwalt E. *Ueber die Filtration von Eiweisslösungen durch thierische Membranen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IV, p. 423-430.
(633) 1881. Grimaux. *Sur des colloïdes azotés.* Compt. rend., vol. XCIII, pagina 771; e Bull. de la Soc. chim., vol. XXXVIII, p. 65, ecc.
(934) 1885. Grimaux. *Sur les substances colloïdales.* Rev. scientifique, 18 april. 1885. (Contiene un riassunto delle numerose ricerche dell'Autore).
(935) 1885. Loewy A. *Ueber den Einfluss der Temperatur auf die Filtration von Eiweisslösungen durch thierische Membranen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 537-562.
(936) 1882. Runeberg J. W. *Zur Frage der Filtration von Eiweisslösungen durch thierische Membranen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI. p. 508-527.
(937) 1890. Hofmeister Fr. *Zur Lehre von der Wirkung der Salze.* V.e *Mittheilung. Untersuchungen über den Quellungsvorgang.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXVII, pag. 395-413. (Letteratura).
(938) 1890. Reid E. W. *Osmosis experiments with living and dead membranes.* Journ. of Physiol., vol. XI, p. 312-351. (Contiene abbondante letteratura sull'argomento).
(939) 1891. Sabanejeff. *Kryoskopische Untersuchungen der Kolloïde.* Chem. Centralbl., p. 10.
(940) 1892. Duncan C. e Hoppe-Seyler F. *Ueber die Diffusion von Sauerstoff und Stickstoff in Wasser.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVII, p. 147-164.
(941) 1894. Hoppe-Seyler F. *Weitere Versuche über die Diffusion von Gasen in Wasser.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIX, p. 411-421.
(942) 1895. Lazarus-Barlow W. S. *Observations upon the initial rates of osmosis of certain substances in water and in fluids containing albumen.* Journ. of physiol., vol. XIX, p. 140-166.
(943) 1895. Pickering J. W. *Synthesised colloids and coagulation.* Journ. of Physiol., vol. XVIII, p. 54-66.
(944) 1895. Halliburton W. D. e Pickering J. W. *The intravascular coagulation produced by synthesised colloids.* Journ. of Physiol., volume XVIII, p. 285-305.
(945) 1896. Martin C. J. *A rapid method of separating colloids from crystalloids in solutions containing both.* Journ. of physiol., vol. XX. p. 364-371.
(946) 1897. Pascheles W. *Untersuchungen über den Quellungsvorgang.* Pflüger's Arch., Bd. LXVII, p. 219-239.
(947) 1897. Hamburger H. F. *Die Geschwindigkeit der Osmose.* (*Lazarus Barlow's « initial rate of osmosis »*). Arch. f. Physiol., p. 137-143.
(948) 1897. Bottazzi F. *Ricerche sull'attrito interno (viscosità) di alcuni liquidi organici e di alcune soluzioni acquose di sostanze proteiche.* L'Orosi. vol. XX. pag. 1-27 (dell'estratto).
(949) 1897. Reid E. W. *A diffusion apparatus.* Journ. of physiol., vol. XXI, p. 85-100.

CAPITOLO SETTIMO.

I fermenti e gli enzimi

§ 1. **Generalità.** — Le stesse modificazioni che noi artificialmente possiamo provocare nei tre gruppi principali dei nostri alimenti — idrati di carbonio, grassi e sostanze proteiche — sottoponendoli in un autoclave all'azione dell'acqua alla temperatura di 150°-200° C e di un'alta pressione, o alla prima solamente alla temperatura ordinaria dell'ebollizione, o all'azione di acidi minerali e di alcali diluiti; le stesse modificazioni, le quali si compendiano in processi di scissione di sostanze complesse in sostanze più semplici accompagnati da assunzione di H^2O (processi idrolitici), provocano gli organismi unicellulari e gli elementi cellulari di organismi superiori. I primi furono detti **fermenti organizzati** o semplicemente **fermenti.** Ma tanto questi come gli elementi cellulari degli organismi superiori (vegetali e animali) esercitano la loro azione disintegrativa idrolitica mediante speciali sostanze, sembra di natura proteica e certo di composizione molto complessa tuttora indeterminata, che fabbricano nel loro interno, durante il periodo di riposo ed emettono all'esterno, perchè esercitino sulle sostanze che sono destinate ad essere modificate la loro azione decomponente. A queste sostanze, che in certi casi assumono forma di granuli osservabili al microscopio benchè non godano d'esistenza individuale libera, fu dato il nome di **fermenti non organizzati,** o semplicemente di **enzimi.** Esistono, però, alcuni speciali processi idrolitici, i quali sinora non sappiamo attribuire a uno speciale enzima fabbricato da fermenti o da cellule di organismi superiori, e che diciamo effetto dell'attività propria individuale di quelli o di queste. Così, p. e., l'inversione del saccarosio in destrosio e levulosio è dovuta a un enzima — l'invertina — fabbricato dal fermento della birra; ma l'ulteriore scomposizione del destrosio in alcool, ecc., diciamo essere dovuta all'azione immediata di quegli organismi unicellulari che costituiscono il lievito di birra. Probabilmente, però, anche questo secondo processo idrolitico è dovuto a un enzima speciale, diverso dall'invertina, contenuto nel pro-

toplasma delle cellule del fermento, benchè con la morte di queste s'arresti anche il processo in parola. Tuttavia si può ammettere che esistano enzimi più o meno resistenti all'azione dei tossici, e certo esistono enzimi che vengono emessi dalle cellule che li fabbricano, altri che agiscono solo nell'interno di esse, ed altri finalmente che sono emessi solo dopo la morte delle cellule.

Differenza fra i fermenti e gli enzimi. — Essendo i fermenti degli organismi unicellulari, sono distrutti da tutti i veleni del protoplasma: alcool, etere, cloroformio, timolo, acido fenico e sublimato in soluzioni diluite, dai sali neutri in adequata concentrazione ecc.: sostanze le quali non spiegano alcuna influenza sulle proprietà specifiche degli enzimi, che rimangono attivi dopo la distruzione delle cellule in cui si generarono.

I fermenti e gli enzimi non si distruggono, spiegando le loro attività fermentative; ma mentre i primi in un terreno adatto si moltiplicano quasi indefinitamente, gli altri, invece, non subiscono alcun aumento in peso, onde risulta che la celerità e l'intensità del processo fermentativo solo quando si tratta di enzimi dipende in generale dalla quantità di sostanza attiva messa in presenza della sostanza fermentescibile.

La fermentazione. — Il fenomeno che i fermenti inducono nelle sostanze, sulle quali spiegano la loro attività, dicesi **fermentazione**. Fenomeni simili sono la fermentazione alcoolica del succo dell'uva o di altre frutta, l'acidificazione del latte, la trasformazione dell'urea in carbonato ammonico, ecc.; e inoltre tutta la serie delle decomposizioni cui vanno soggette le sostanze organiche, per cui si formano gas di odore putrido, e che si comprendono sotto il nome generico di putrefazione.

Invece i fenomeni di scissione idrolitica prodotti dagli enzimi: l'inversione del saccarosio, la trasformazione dell'amido in zucchero, delle proteine in proteosi e peptoni, del fibrinogeno in fibrina ecc., si possono aggruppare, secondo la proposta di SCHERIDAN LEA, sotto il nome di **zimolisi**, o, secondo ROBERTS, di **enzimosi**.

§ 2. **Proprietà dei fermenti e degli enzimi.** — Le proprietà particolari principali dei fermenti e degli enzimi sono le seguenti.

La necessità di H^2O. Il disseccamento però non distrugge, ma sospende solamente l'attività loro, che si ridesta a volontà ripristinando le condizioni di umidità sufficiente. Le soluzioni saline concentrate inibiscono le fermentazioni per sottrazione dell'H^2O. Le spore dei fermenti, però, resistono a lungo al disseccamento.

L'acqua bollente, specialmente se soprariscaldata, e il vapor d'acqua a 100° C, distruggono i fermenti e specialmente e più rapidamente gli enzimi.

La loro attività è maggiore alla temperatura del corpo, è sospesa,

ma non abolita, da temperature molto basse (— 70° — 83° C, per 20-100 ore).

La presenza di considerevoli quantità di sali neutri inibisce l'azione degli enzimi; mentre in generale, la presenza di sostanze minerali e sopratutto di sostanze nutritive organiche e specialmente azotate (fatta eccezione per quei fermenti che possono utilizzare l'N atmosferico o minerale nei processi sintetici di cui sono capaci) è indispensabile alla vita e alla funzionalità dei fermenti.

Tutte le sostanze che si combinano con le proteine denaturandole, li distruggono, in concentrazione minore o maggiore a seconda che si tratta rispettivamente di fermenti o di enzimi (sublimato, acido picrico, acido tannico, ecc., acidi minerali, specialmente acido solforoso). Solo la pepsina è attiva in soluzioni di HCl non più concentrate del 4-5 $^0/_{00}$, e resiste anche all'H^3PO^4. Su questo fatto è basato il principio dell'antisepsi per quanto riguarda i fermenti e i batteri patogeni.

L'accumularsi dei prodotti della fermentazione (specialmente il $(NH^4)^2CO^3$) arresta l'attività loro. Solo la chimosina rimane attiva in presenza di grandi quantità di caseina.

Tanto i fermenti quanto gli enzimi posseggono la proprietà di scindere il H^2O^2 in H^2O ed O. Agli enzimi può però mancare o esser tolta questa proprietà (mediante riscaldamento a 60° C del succo pancreatico, forte riscaldamento degli enzimi secchi, precipitazione e trattamento con alcool, con sali neutri), senza che essi si mostrino meno attivi nel resto. Ciò fa sospettare che le due proprietà siano intimamente legate a gruppi atomici differenti della sostanza proteica che costituisce gli enzimi.

Nei processi fermentativi, di qualsiasi natura, si sviluppa calore per il fatto che le modificazioni chimiche che subiscono le sostanze molto labili e complesse scindendosi in prodotti più semplici e più stabili sono di carattere esotermico. Nelle coagulazioni, che certi enzimi provocano, lo sviluppo di calore è dovuto in parte al passaggio della sostanza dallo stato liquido allo stato solido. Gli enzimi coagulanti si differenziano dagli altri inoltre appunto perchè trasformano sostanze disciolte in solide. Poichè gli enzimi non fanno, in fondo, che preparare il materiale nutritivo e ridurlo in una forma adeguata all'attività delle cellule, la loro azione decomponente si arresta a un certo punto, ch'è particolare e proprio a ciascuno di essi.

In rapporto all'O, i fermenti differiscono dagli enzimi, in quanto che i primi, contrariamente agli altri, non possono a lungo fare a meno di quel gas in quantità maggiore o minore, e perchè sono distrutti dall'O^2 puro alla pressione di più atmosfere, ciò che non si

verifica per gli enzimi. L'affermazione di PASTEUR, che esistono microrganismi veramente anaerobi, sembra infondata.

§ 3. **Caratteri chimici degli enzimi.** — Gli enzimi, secondo l'opinione degli osservatori più autorevoli, sono costituiti di sostanza proteica; sciolti in H^2O, non diffondono; dalle soluzioni acquose sono precipitati dal $(NH^4)^2SO^4$, dall'alcool, che non altera alcuno di essi anche dopo lungo tempo, mentre altera altri (pepsina). In soluzione acquosa, tutti gli enzimi perdono, alla temperatura di 80° C (molti anche alla temperatura di 62° C), le loro proprietà fermentative; secchi, resistono a 100° C (la tripsina e la pepsina anche a 150°-160° C), rimanendo solubili e attivi. Si sciolgono in glicerina, che li protegge dalle azioni batteriche; mentre gli estratti acquosi, senza l'aggiunta di cloroformio, timolo, ecc., soggiacciono all'azione dei batteri, che distruggono gli enzimi, come ogni altra sostanza proteica. Sono meccanicamente trascinati da precipitati indifferenti (fosfati di Ca, colesterina), dai quali vengono poi adeguatamente isolati.

La massima parte degli enzimi sciolti in H^2O dànno le reazioni delle sostanze proteiche, coagulano all'ebollizione, sono precipitati dall'acetato di Pb, dal nitrato di Hg, dal nitrato d'Ag, dal sublimato, ecc.; dànno le reazioni xantoproteica, del biurete e di MILLON. Alcuni di essi sono forse dei gliconucleoproteidi (il proteide estratto da HAMMARSTEN dal pancreas era dotato di potente azione digestiva sulle sostanze proteiche), o, in generale, dei corpi analoghi ai proteidi.

Nella tabella seguente diamo la composizione centesimale di alcuni enzimi, secondo le determinazioni fatte da diversi Autori.

La massima parte di queste analisi, paragonate con quelle delle sostanze proteiche, dimostrano un contenuto $^0/_0$ assai basso di C e N e assai alto di ceneri, ciò che è dovuto principalmente al fatto che le sostanze analizzate non erano pure.

Secondo HENNINGER, le **diastasi** hanno la composizione delle sostanze proteiche o dei peptoni, e non se ne differenziano che per il loro potere fermentativo; se si distrugge questo col calore, nulla permette di distinguerle da quei corpi. Secondo DUCLAUX, le diastasi contengono molto meno C e molto più O delle sostanze costituenti gli organismi viventi: si avrebbe dunque il diritto di considerarle come sostanze proteiche ossidate, ciò che spiega ch'esse non godono più di alcune proprietà delle sostanze proteiche genuine, sebbene contengano ancora molto N.

Ricorderò finalmente che per altri Autori gli enzimi non sono che degli idrati di carbonio (?), gomma o sostanze vicine alla gomma (ARTHUS).

§ 4. **Caratteri dei fermenti.** — Relativamente ai fermenti non possiamo qui ricordare che alcune nozioni generali sulla loro biologia, che costituisce per sè sola un'intera letteratura.

Tabella quarantatreesima.

Elementi	(Huefner) Enzimi del pancreas		(Donath) Invertina dal lievito di birra	(Barth) Invertina dal lievito di birra	(Salkowski) Diastasi del malto	(Wurtz) Papaina		Loew Pancreatina	(Lintner) Diastasi di malto
	Impuri	Puri				Impura	Pura		
C. .	40,75 (med. di 5 an.)	43,28 med. di 3 an.)	40,5 (med. di 2 an.)	44,4 (med. di 2 an.)	47,57	51,73 (med. di 2 an.)	52,52 (med. di 3 an.)	52,75	46,66
H. .	6,73 (med. di 5 an.)	6,68 (med. di 3 an.)	6,63 (med. di 2 an.)	8,4 (med. di 2 an.)	6,49	7,9 (med. di 2 an.)	7,24 (med. di 2 an.)	7,51	7,35
N. .	13,48 (med. di 2 an.)	13,9 (med. di 2 an.)	9,41 (med. di 2 an.)	5,95 (med. di 2 an.)	5,14	15,17	16,59 (med. di 3 an.)	16,55	10,41
S. .	—	0.88	—	0,63	37,64	2,4	—	23,19	1,12
O. .	—	--	—	—		—	—		—
Ceneri	8,22	7,04	—	(circa 20 %)	3,16	—	3,41 (med. di 3 an.)		4,79

I prodotti terminali dell'attività spiegata dai fermenti sulle sostanze organiche sono sempre molto semplici (fanno eccezione il *Mycoderma aceti* e il *Mycoderma vini*, la cui attività s'arresta alla formazione dell'acido acetico per condizioni particolari del loro sviluppo), quando l'O si trova in abbondanza, e si provvede ad allontanare i prodotti medesimi man mano che si vengono formando. Essi sono: CO^2, NH^3 e H^2O. In queste condizioni le semplici scissioni non mancano; se non che, ad esse tengono dietro subito le ossidazioni.

Se l'O è scarso o viene a mancare, e i processi di ossidazione si arrestano o passano in seconda linea, aumentano i processi di semplice scissione, e allora solamente compariscono sostanze, quali il mercaptano, l'indolo e lo scatolo, la tirosina e la leucina, le quali comunemente sono considerate come prodotti di putrefazione. Un fatto analogo si osserva nella vita delle cellule degli organismi animali: se l'O fa difetto, aumenta la scomposizione delle proteine organizzate (FRAENKEL).

I prodotti dell'attività funzionale dei fermenti sono vari a seconda della sostanza da scomporsi e della specie del fermento. Però un medesimo fermento può agire sopra diverse sostanze, producendo sostanze differenti. Molti fermenti, come gli enzimi, sono legati a terreni nutritivi affatto determinati.

Col nome di **respirazione intramolecolare** i fisiologi intendono la formazione di CO^2 nella cellula, senza l'accesso dell'O atmosferico, la quale sarebbe dovuta a una dislocazione atomica delle sostanze assunte dalla cellula, operata dal suo protoplasma vivente. Di tale proprietà sono dotati anche molti fermenti.

Tutti i fermenti hanno bisogno di sostanze nutritive azotate (ad eccezione di quelli che sono capaci di trasformare l'N atmosferico in nitrito ammonico), le quali per ciò debbono far parte, oltre ai sali inorganici e all'acqua, dei liquidi di coltura, specialmente quando il materiale su cui i fermenti stessi spiegano la loro attività non è azotato.

Per ciò che riguarda l'attività specifica dei fermenti, quando non si possa attribuirla a speciali enzimi non diffondenti oltre l'elemento cellulare, noi siamo costretti ad ammettere ch'essa coincide con l'attività specifica che spiegano le cellule dei tessuti viventi o gli altri organismi unicellulari nel compiere quella serie di fenomeni, che i fisiologi, in mancanza di cognizioni precise, sogliono chiamare vitali.

§ 5. **Natura dell'azione dei fermenti e degli enzimi.** — Secondo NAEGELI il protoplasma vivente del fermento comunica alla sostanza organica fermentescibile le speciali vibrazioni atomiche di cui è dotata la sua propria sostanza, per cui viene a rompersi l'equilibrio degli aggruppamenti molecolari della prima, i cui atomi posseggono

altra forma e velocità di vibrazioni. Così che l'unica differenza fra l'azione degli enzimi e quella dei fermenti starebbe in ciò, che mentre i primi agirebbero come sostanze chimiche uniche e costanti nella loro composizione, l'azione dei fermenti sarebbe come la risultante delle azioni particolari delle diverse sostanze di cui il loro protoplasma è costituito.

Varie ipotesi si contendono il campo sulla natura dell'azione enzimatica.

Secondo alcuni, si tratterebbe di **azioni catalitiche,** nelle quali le sostanze attive non avrebbero una partecipazione materiale, del genere di quelle che determinano in presenza di poco P o As la dissociazione del cloruro d'azoto, o in presenza di platino, oro, argento assai finemente divisi la scomposizione dell'H^2O^2. Gli enzimi trasmetterebbero alle molecole delle sostanze dissociabili, in generale assai labili, delle vibrazioni tali da disturbare e distruggere l'equilibrio dei gruppi atomici che le costituiscono. La causa di ciò starebbe in una differenza nel numero o nella forma delle vibrazioni atomiche intramolecolari della sostanza enzimatica e della sostanza disintegrabile, e in una tendenza a equipararsi delle due specie di vibrazioni, per cui gli atomi della sostanza decomponibile sollecitati dalle vibrazioni più rapide della sostanza dell'enzima, e coll'aiuto di una temperatura conveniente, verrebbero a disgregarsi, prendendo un altro stato d'equilibrio. In altre parole, questa forma d'energia, senza determinare vere combinazioni chimiche, scuoterebbe la struttura molecolare della sostanza, determinandone la scomposizione (Naegeli). Analogamente agirebbero i reagenti chimici con cui provochiamo analoghe decomposizioni.

Molto simile alle azioni catalitiche è la cosidetta **azione di contatto.** In questa, una data sostanza contrae combinazioni passeggiere con la sostanza dissociabile, per rigenerarsi successivamente e incessantemente, determinando durante la seconda fase di questa reazione ciclica, la disintegrazione della medesima. In tal modo agisce l'ossido di N nella preparazione dell'H^2SO^4 da biossido di S, acqua e ossigeno; così agisce anche l'H^2SO^4 nella fabbricazione dell'etere.

Un'altra ipotesi ha sostenuta il De Jager, il quale considera gli enzimi come delle vibrazioni molecolari capaci di produrre delle decomposizioni chimiche (cit. da Arthus).

Finalmente l'Arthus, ultimamente, basandosi sul fatto che le analisi chimiche delle sostanze ritenute sinora come speciali diastasi hanno dato dei risultati assolutamente discordanti, considera quelle sostanze come delle impurità e propone « di considerare gli enzimi non come delle sostanze materiali, ma come delle proprietà di sostanze materiali ». Tanto il De Jager quanto l'Arthus vorranno ammettere, spero, che le vibrazioni e le proprietà di cui essi

parlano siano legate a qualche corpo chimico, sia questo finora conosciuto o no, in ogni singolo caso; e allora non vedo in che consista la novità delle affermazioni loro.

In modo speciale furono considerati gli **enzimi coagulanti**, per la rapidità straordinaria della loro azione. Secondo FICK, per questi enzimi non sarebbe necessario un diretto contatto con le sostanze coagulabili, e il fenomeno della coagulazione avrebbe l'aspetto di un movimento molecolare propagantesi con grandissima rapidità, in cui la scomposizione d'una molecola porterebbe per conseguenza la scomposizione delle molecole vicine. Quest'opinione di FICK è stata poi contraddetta da ricerche istituite con maggior cura.

§ 6. **Varie specie di enzimi.** – Lasciando da parte la classificazione dei fermenti, che qui sarebbe fuori di luogo, noi ordiniamo gli enzimi meglio conosciuti nei seguenti gruppi:

1. **Enzimi proteolitici** (peptonizzanti, che digeriscono le proteine): pepsine, tripsina, papaina o papaiotina, cradina (del fico). Alcuni fermenti secregano anche di questi enzimi, che sembrano simili o identici alla tripsina.

2. **Enzimi amilolitici**: ptialina, amilopsina, diastasi vegetale, ed altri secregati da fermenti.

3. **Enzimi steatolitici** (che scompongono i grassi): steapsina. Anche in semi vegetali sono stati trovati enzimi aventi la stessa proprietà, e propriamente nel *Ricinus*, nel *Papaver somn.*, nella *Cannabis sativa*, nei semi di lino e di mais.

4. **Enzimi coagulanti le proteine**: chimosina, trombina, quello (ancora ipotetico) che coagula il miosinogeno, ed altri vegetali (della *Withania coagulans*, pepe nero ecc.).

5. **Enzimi invertenti o zuccherasi**: invertina animale e vegetale (come prodotto di molti fermenti, e nei grani germinanti).

6. **Enzimi ureolitici** (che decompongono l'urea): esistono come prodotti di una quantità di fermenti, e specialmente del *Micrococcus ureae* e del *Bacterium ureae*, del *Bacillus fluorescens* e d'altri. Così, p. e., il *Micrococcus ureae* forma un enzima, il quale agisce nell'interno delle cellule di fermento e provoca la fermentazione alcalina dell'orina trasformando l'urea in carbonato ammonico:

$$CO\begin{matrix}/NH^2\\ \backslash NH^2\end{matrix} + 2H^2O = CO\begin{matrix}/ONH^4\\ \backslash ONH^4\end{matrix}.$$

Questo processo non basta alla vita del microrganismo, la cui azione tosto s'arresta in una soluzione pura di urea. L'enzima è messo in libertà dopo la morte del microrganismo.

7. **Enzimi che scompongono i glicosidi**: si trovano solo nei vegetali superiori.

8. L'enzima secreto dal *Bacillus amylobacter*, che idrata il cellulosio (e non l'amido), trasformandolo in prodotti solubili.

9. La **luciniferasi** (di R. DUBOIS), che ha la proprietà singolare di produrre la luminosite.

10. Esiste poi un batterio che produce un **enzima** dotato di attività intracellulare, il quale provoca la scissione dell'acetato e del formiato di calcio, nel seguente modo:

a)
$$\underbrace{\begin{matrix} H \\ | \\ CO.O \\ \\ CO.O \\ | \\ H \end{matrix}}_{\text{formiato di Ca}} Ca + H^2O = \underbrace{CO\begin{matrix} \diagup O \\ \\ \diagdown O \end{matrix}}_{\text{carbonato di Ca}} Ca + CO^2 + 2\,H^2$$

b)
$$\underbrace{\begin{matrix} CH^3 \\ | \\ CO.O \\ \\ CO.O \\ | \\ CH^3 \end{matrix}}_{\text{acetato di Ca}} Ca + H^2O = \underbrace{CO\begin{matrix} \diagup O \\ \\ \diagdown O \end{matrix}}_{\text{carbonato di Ca}} Ca + CO^2 + \underbrace{2\,CH^4}_{\text{metano}}.$$

11. BERTRAND avrebbe scoperto nel latice dell'albero da lacca una diastasi, dotata della proprietà di favorire l'ossidazione di alcune sostanze da parte dell'O atmosferico, e che egli ha chiamato **laccasi.** Questo enzima, che ha i caratteri degli altri corpi analoghi, non agisce sull'amido, nè sul saccarosio, sull'amigdalina, ecc.

12. Questo fatto ci conduce alla questione, molto studiata in questi ultimi anni, del potere ossidante dei tessuti, di cui vogliamo qui brevemente occuparci.

Lo JAQUET, mettendo a contatto coi tessuti dell'alcool benzilico o dell'aldeide salicilica, trovò che, dopo un certo tempo, una parte di essi era trasformata in acido benzoico e rispettivamente salicilico. In simile ossidazione i tessuti non potevano servirsi che dell'O atmosferico, poichè essi non erano più irrorati dal sangue e non potevano utilizzare l'O dell'emoglobina. Egli notò che questo fatto non poteva essere considerato come nuovo, poichè processi di ossidazione presentano anche moltissimi organismi inferiori privi di sangue. Le conclusioni alle quali pervenne lo JAQUET, in seguito alle sue ricerche, sono:

a) che il sangue non è indispensabile perchè si verifichino processi di ossidazione nei tessuti;

b) che i tessuti in vari modi uccisi e anche gli estratti degli organi e dei tessuti, in presenza dell'O del sangue o atmosferico, posseggono la proprietà di compiere delle ossidazioni;

c) e, poichè questa proprietà sparisce alla temperatura di ebollizione, mentre permane dopo la distruzione dell'integrità morfologica degli elementi cellulari, che la detta proprietà è dovuta a uno speciale **enzima ossidante;**

d) e finalmente, che non si può ammettere una differenza sostanziale fra l'azione di questo enzima e l'azione degli altri enzimi così detti catalitici, perchè, come ha dimostroto SCHMIEDEBERG, anche nelle ossidazioni ha luogo un distacco di atomi d'H dagli atomi di C, e quindi una scissione della sostanza ossidata. L'importanza della scoperta di uno speciale enzima ossidante è grandissima, perchè le ossidazioni intracellulari sembrarono finora come una rocca inespugnabile in cui si erano rifugiate le dottrine vitalistiche.

Più tardi ABELOUS e BIARNÉS trovarono che il sangue può ossidare l'aldeide salicilica, a una temperatura conveniente, e che questa ossidazione è indipendente dalla presenza dei globuli e dell'emoglobina; tuttavia il potere ossidante degli organi (polmoni, reni) è superiore a quello del sangue, considerato come un tessuto. Esiste una vera gerarchia fra gli organi relativamente al loro potere ossidante. I più attivi sono il polmone, il fegato, e sopra tutti la milza; ossidano anche il corpo tiroide, i testicoli, i corpi surrenali, il timo, ecc.; mentre i muscoli, il cervello, il pancreas (fatto degno di nota) o non hanno o hanno un piccolissimo potere ossidante. In generale il potere ossidante dei diversi organi è più energico negli animali giovani che negli adulti.

Rimaneva ad isolare il corrispondente enzima ossidante. JAQUET ci s'era provato, ma giunse solo a persuadersi che il detto enzima, che poteva estrarsi anche da organi prima induriti in alcool e disseccati, è probabilmente poco solubile in acqua, onde la difficoltà di prepararlo allo stato di purezza necessaria. ABELOUS e BIARNÉS non sono stati più fortunati, servendosi dell'estrazione degli organi con glicerina, in cui pare che l'enzima sia anche insolubile o pochissimo solubile. Essi hanno però stabilito che l'acidità del liquido arresta l'azione dell'enzima, che ha il suo *maximum* d'azione a 60° C.

Un metodo molto elegante per dimostrare, anche in scuola, il potere ossidante dei tessuti e degli organi è il seguente (ROEHMANN e SPITZER, ABELOUS e BIARNÉS):

Si prepara una soluzione così composta:

parafenilendiamina . . .	aa gr.	1,44
α-naftolo		
carbonato sodico		
acqua distillata	»	100,0 ;

si mettono 10 cm.³ di una soluzione al centesimo di questo liquido in alcune provette, nelle quali poi s'introducono frammenti eguali di organi diversi.

Il liquido originale non si colora spontaneamente in blu e poi in violetto che in capo ad un tempo lunghissimo, per una lenta ossidazione, a contatto dell'aria; ma quando vi si aggiunge il frammento d'organo liberato dal sangue, la colorazione violetta apparisce immediatamente. La sostanza colorante che in tal guisa si forma, e che è un indofenolo, non può formarsi che per un fenomeno d'ossidazione, avente luogo secondo queste reazioni:

$$\underbrace{C^6H^4(NH^2)^2}_{\text{(parafenilendiamina)}} + \underbrace{C^{10}H^7.OH}_{(\alpha\text{-naftolo})} + O = NH\begin{cases} C^6H^4.NH^2 \\ C^{10}H^6.OH \end{cases} + H^2O$$

$$NH\begin{cases} C^6H^4NH^2 \\ C^{10}H^6.O \end{cases} + O = \underbrace{N\begin{cases} C^6H^4.NH^2 \\ C^{10}H^6.O \end{cases}}_{\text{(indofenolo)}} + H^2O$$

Roehmann e Spitzer ammettono che, in questa reazione, l'ossigeno molecolare (O^2) è stato sdoppiato dall'enzima, che avrebbe l'ufficio di sostanza provocante l'ossidazione alla maniera del palladio idrogenato di Hoppe-Seyler.

§ 7. **Processi per isolare gli enzimi.** — **Processo di** Bruecke (spec. per la pepsina). — Si fa un estratto della glandola o altra parte contenente l'enzima in soluzione diluita di H^3PO^4 alla temperatura del corpo. Dopo alcuni giorni, si neutralizza con acqua di calce. Il precipitato di fosfato di Ca trascina seco meccanicamente l'enzima; lo si scioglie in HCl diluito e si dializza, rinnovando ripetutamente l'HCl nel dializzatore. Dopo che tutto il fosfato calcico è stato decomposto e tutto l'HCl è passato, la pepsina è precipitata con alcool, e questo rapidamente allontanato per filtrazione.

Processo della colesterina. — Al liquido contenente l'enzima si aggiunge una soluzione alcoolica concentrata di colesterina; questa precipita, diluendosi l'alcool, e trascina seco l'enzima. Il precipitato raccolto sul filtro è trattato con alcool, che scioglie la colesterina, mentre l'enzima rimane sul filtro.

Processo di Wittich (spec. per i fermenti del pancreas). — La glandola, finemente tritata e lavata, è messa in contatto di alcool assoluto per lungo tempo; decantato l'alcool, il residuo è messo in glicerina; dopo alcuni giorni si filtra e nel filtrato glicerico, con un eccesso di alcool assoluto sono precipitati gli enzimi in forma pulverulenta bianca. Così ottenuti, sono impuri. Per purificarli, si fa macerare il precipitato in glicerina, in cui si scioglie lentamente; questa seconda soluzione glicerica è versata a goccia a goccia in un vaso alto contenente alcool assoluto; si ottiene un precipitato fioccoso, che, dopo due giorni, è separato per filtrazione e disseccato nel vuoto.

Processo di ZULKOWSKY e KOENIG (spec. per l'invertina). — Il lievito di birra è esaurito con alcool assoluto, spremuto, disseccato a bassa temperatura, tritato e disciolto in acqua. Il liquido filtrato opalescente è agitato con etere: una massa mucosa si deposita negli strati profondi dell'etere. Si agita questa massa a più riprese con acqua e si filtra; il filtrato è versato a goccia a goccia nell'alcool assoluto, dove si forma un precipitato fioccoso bianco, che è filtrato, lavato con alcool e disseccato. (Purificato, questo enzima non presenta più le reazioni delle sostanze proteiche).

Processo di WURTZ **per l'estrazione della papaina.** — Per estrarre la papaina dal succo della *Carica papaya,* questo è abbandonato a sè stesso per qualche tempo, e quando s'è diviso, per la coagulazione, in una parte polposa e in un siero chiaro, neutro, si estrae la prima con H^2O, alla quale cede la papaina. Si dializza questa soluzione acquosa, per sbarazzarla dell'eccesso di sali, si precipita l'enzima con alcool e lo si dissecca. Per ottenere una sostanza più pura, si precipita con acetato basico di Pb la soluzione acquosa di papaina; il precipitato è sottoposto all'azione del H^2S, il solfuro di Pb è precipitato con alcool nella soluzione concentrata nel vuoto, si filtra il precipitato salino e nel filtrato si precipita con un eccesso di alcool l'enzima.

La papaina così ottenuta presenta le reazioni delle sostanze proteiche.

VIII. — Bibliografia degli enzimi e dei fermenti.

(950) 1858. TRAUBE M. *Theorie der Fermentwirkungen.* Berlin.

(951) 1873. HUEFNER G. *Untersuchungen über « ungeformte Fermente » und ihre Wirkungen.* Journ. f. prakt. Ch., Bd. V (N. F.), pag. 372-396.

(952) 1876. SCHMIEDEBERG O. *Ueber die Bildung der Hippursäure.* Arch. f. exp. Path. p. Pharm., Bd. VI, p. 233-255.

(953) 1876. HOPPE-SEYLER F. *Ueber die Processe der Gährungen und ihre Beziehung zum Leben der Organismen.* Pflüger's Arch., Bd. XII, p. 1.

(954) 1877. MUNK J. *Ueber die Einwirkung des Wassers und ihre Beziehung zu den fermentativen Spaltungen.* Zeitschr. f. physiol. Chem., Bd. I, p. 357-373.

(955) 1878. HOPPE-SEYLER F. *Ueber Gährungsprozesse.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. II, p. 1-28.

(956) 1879. v. NAEGELI C. *Theorie der Gährung.* München.

(957) 1879. HOPPE-SEYLER F. *Ueber Gährungsprozesse. Synthese bei Gährungen.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. III, p. 351-361.

(958) 1881. SCHMIEDEBERG O. *Ueber Oxydationen und Synthesen im Thierkörper.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XIV, p. 288-312.

(959) 1882. WORTMANN J. *Untersuchungen über das diastatische Ferment der Bacterien.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. VI, p. 287-329.

(960) 1882. Loew O. *Ueber die chemische Natur der ungeformten Fermente.* Pflüger's Arch., Bd. XXVII, p. 203-213.
(961) 1882. Mayer A. *Die Lehre von den chemischen Fermenten oder Enzymologie.* Heidelberg.
(962) 1882-83. Liebermann L. *Ueber Gährung und Fermente.* Biol. Centralbl., Bd. II, p. 747-756.
(963) 1885. Martin S. H. C. *The nature of papain and its action on vegetable proteids.* Journ. of Physiol., vol. VI, p. 336-360.
(964) 1885. Schuetz E. *Eine Methode zur Bestimmung der relativen Pepsinmenge.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 577-590.
(965) 1885. Loew O. *Notizen: 2. Ueber die Natur der ungeformten Fermente.* Pflüger's Arch., Bd. XXXVI, p. 170.
(966) 1885. Buchner E. *Ueber den Einfluss des Sauerstoffs auf Gährungen.* Zeitschr. physiol. Ch., Bd. IX, p. 380-415.
(967) 1886. Langley J. N. e Edkins J. S. *Pepsinogen and Pepsin.* Journ. of Physiol., vol. VII, p. 371-415.
(968) 1886. Lintner. *Studien über Diastase.* I. Journ. f. prakt. Chem. (N. F.), Bd. XXXIV, p. 378-393.
(969) 1886. Sundberg C. *Ein Beitrag zur Kenntniss des Pepsins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. IX, p. 319-322.
(970) 1887. Hirschfeld E. *Ueber die chemische Natur der vegetabilischen Diastase.* Pflüger's Arch., Bd. XL, p. 311-313.
(971) 1888. Nasse O. *Ueber Gährungen und Fermentationen.* Biol. Centralbl., Bd. IX, p. 93-95.
(972) 1888. Amthor C. *Studien über reine Hefe.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 64-71.
(973) 1888. Jaksch R. v. *Ueber das Vorkommen von Fermenten in den Fäces der Kinder, nebst Bemerkungen über das Vorkommen von saccharificirenden Fermenten im Cysteninhalt.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XII, p. 116-129.
(974) 1889. Fick A. *Ueber die Wirkungsart der Gerinnungsfermente.* Pflüger's Arch., Bd. XLV, p. 293-296.
(975) 1889. Mroczkowski. *Ueber die Entstehung eines die Eiweissstoffe (Fibrin) in der Art des Trypsins (Pankreas-Ferments) verdauenden Körpers in den keimenden Samen und im Hühnereiweisse bei Einwirkung der Luft auf dasselbe.* Biol. Centralbl., Bd. IX, p. 154-156.
(976) 1890. Sheridan Lea A. *Notes on the mode of action of rennin and fibrinferment.* Journ. of Physiol., vol. XI, p. 307-311.
(977) 1890. Fermi Cl. *I fermenti peptici e diastatici dei microbi.* Giornale della R. Accad. di Medic. di Torino, n. 1-2.
(978) 1890. Kellner O., Mari J., Nagaoka M. *Beiträge zur Kenntniss der invertirenden Fermente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, pagine 297-317.
(979) 1890. Reinitzer F. *Ueber die wahre Natur des Gummifermentes.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XIV, p. 453-470.
(980) 1890. De Jager L. *Erklärungsversuch über die Wirkungsart der ungeformten Fermente.* Virchow's Arch., Bd. CXXI, p. 182-187.
(981) 1891. Schlesinger A. *Zur Kenntniss der diastatischen Wirkung des menschlichen Speichels, nebst einem Abriss der Geschichte dieses Gegenstandes.* Virchow's Arch., Bd. CXXV, pag. 146-181 e 340-363.
(982) 1891. Tammann F. *Die Reactionen der ungeformten Fermente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 271-328.
(983) 1891. Latschenberger J. *Ueber die Wirkungsweise des Gerinnungsfermente.* Centralbl. f. Physiol., Bd. IV, p. 3-10.
(984) 1892. Schierbeck N. P. *Ueber den Einfluss der Kohlensäure auf die diastatischen und peptonbildenden Fermenten im thierisch. Organismus.* Skandin. Arch. f. Physiol., Bd. III, p. 344-380.
(985) 1892. Jaquet. *Ueber die Bedingungen der Oxydationsvorgänge in den Geweben.* Arch. f. exp. Path. u. Pharm., Bd. XXIX, p. 386-396.
(986) 1892. Jacobson J. *Untersuchungen über lösliche Fermente.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XVI, p. 340-369.

(987) 1894. Arthus N. *Sur la labogénie. Remarques sur le labferment.* Arch. de physiol., ann. XXVI, p. 257.
(988) 1894. Arthus M. e Huber A. *Recherches sur la trypsine.* Arch. de physiol., ann. XXVI, p. 622.
(989) 1894. Fermi Cl. e Pernossi L. *Sugli enzimi. Studio comparativo.* Annali dell'Istit. d'igiene sper. di Roma, vol. IV (N. S.), Fasc. 1, pagine 93-144.
(990) 1894. Id. e Id. *Ueber die Enzyme. Vergleichende Studie.* Zeitschr. f. Hyg., etc. Bd. XVIII, pag. 83 127.
(991) 1894. Schwiening. *Ueber fermentative Prozesse in den Organen.* Virchow's Arch., Bd. CXXXVI, p. 444.
(992) 1894. Abelous J.-E. e Biarnés G. *Sur le pouvoir oxydant du sang.* Arch. de Physiol., ann. XXVI, p. 591-595.
(993) 1894. Salkowski e Tamagira. *Ueber das Oxydationsferment der Gewebe.* Centralbl. f. med. Wissensch., n. 52.
(994) 1895. Lintner C. J. e Kroeber E. *Zur Kenntniss der Hefeglycase.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, p. 1050-1056.
(995) 1895. Hamburger C. *Vergleichende Untersuchungen über die Einwirkung des Speichels, des Pankreas und Darmsaftes, sowie des Blutes auf Stärkekleister.* Pflüger's Arch., Bd. LX, p. 543-578.
(996) 1895. Wroblewski A. *Zur Kenntniss des Pepsins.* Zeitschr. physiol. Chem., Bd. XXI, p. 1-18.
(997) 1895. Roehmann F. *Zur Kenntniss der Glucase.* Ber. deutsch. chem. Gesellsch., Bd. XXVII, p. 3251-3253.
(998) 1895. Abelous J.-E. e Biarnés G. *Sur le pouvoir oxydant du sang et des organes.* Arch. de Physiol., ann. XXVII, p. 195-199.
(999) 1985. Id. e Id. *Recherches sur le méeanisme des oxydations organiques.* Arch. de Physiol., ann. XXVII, p. 239-214.
(1000) 1895. Roehmann F. e Lappe J. *Ueber die Lactase des Dünndarms.* Ber. deutsch. chem. Ges., Bd. XXVIII, pag. 2506.
(1001) 1895. Roehmann F. e Spitzer W. *Ueber Oxydationswirkungen thierischer Gewebe.* Ibid., pag. 567.
(1002) 1896. Abelous J.-H. e Biarnés G. *Hierarchie des organes au point de vue du pouvoir oxydant.* Arch. de Physiol., ann. XXVIII, p. 311-316.
(1003) 1896. Bertrand G. *La laque et la laccase. Contribution à la connaissance des oxydations diastasiques.* Arch. d. Physiol., ann. XXVIII, p. 23-31.
(1004) 1896. Arthus M. *Nature des enzymes.* Paris.
(1005) 1897. Pugliese A. *Influenza del riscaldamento sui fermenti diastatici.* Bologna.
(1006) 1897. Pugliese A. e Coggi C. *Influenza del siero di sangue sugli enzimi* Bullett. delle Scienze med. di Bologna (serie 7.ª), vol. VIII, giugno.

FINE DEL VOLUME PRIMO.

WELLCOME LIBRARY INSTITUTE